Die Feinstruktur des Nephridialkanals von *Lumbricus terristris* L.
Eine elektronenmikroskopische Untersuchung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kai Graszynski
aus Berlin

1963

1. Referent: Prof. Dr. W. Ulrich

2. Referent: Prof. Dr. K. Urich

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Oktober 1961

Tag der Promotion: 24. Juli 1963

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Veröffentlicht in: Zoologische Beiträge, Neue Folge, Band 8, Heft 2 (19
Verlag Duncker & Humblot, Berlin

(Aus dem Zoologischen Institut [Direktoren: Prof. Dr. W. Ulrich und Prof. Dr. K. Günther] und der Abteilung für Elektronenmikroskopie der Math.-Nat. Fakultät [Prof. Dr. E. Ruska, Prof. Dr. E. Wiesenberger] der Freien Universität Berlin)

Die Feinstruktur des Nephridialkanals von *Lumbricus terrestris* L. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung*

Von

KAI GRASZYNSKI

(Mit 12 Abbildungen und 20 elektronenmikroskopischen Aufnahmen)

Eingegangen am 20. Juni 1962

Inhalt: Einleitung S. 190. — A. Die Bearbeiter, allgemeiner Aufbau des Nephridiums und Nomenklatur der Kanalabschnitte S. 191. — B. Eigene Arbeiten S. 194. — I. Material und Methoden S. 194. — 1. Lichtmikroskopische Methoden S. 195. — 2. Elektronenmikroskopische Methoden S. 195. — II. Ergebnisse S. 199. — 1. Lichtmikroskopische Untersuchungen S. 199. — 2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen S. 203. — 2.1 Orientierung im Nephridium nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen S. 203. — 2.2 Intra- und interzelluläres Kanallumen S. 210. — 2.3 Die Feinstruktur der einzelnen Kanalabschnitte S. 210. — a) Der Trichterhals S. 210. — b) Der Schleifenkanal S. 213. — c) Der Zilienkanal S. 218. — d) Die Ampulle S. 224. — e) Der Bläschenkanal S. 229. — f) Der Stäbchenkanal S. 231. — g) Die Endblase S. 236. — h) Abweichende Nephridien S. 239. — 2.4 Die Feinstruktur der anderen Gewebe des Nephridiums S. 241. — a) Die Hüllzellen S. 241. — b) Cölomzellen S. 245. — c) Amöboidzellen S. 247. — d) Die Interzellularsubstanz S. 248. — e) Die Blutgefäße S. 253. — f) Zilien S. 256. — g) Die Muskulatur in der Endblase S. 259. — h) Granula im Nephridium und „Chloragosomen" S. 262. — III. Vergleich der im Nephridium beobachteten Strukturen mit der Feinstruktur anderer Organe (und Gedanken über Vorgänge an diesen Strukturen). S. 263. — 1. Mikrovilli und basale Zellwandeinstülpungen. S. 263. — a) Vergleich mit den bisher untersuchten Organen S. 263 — b) Allgemeines über Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen S. 275. — 2. Die Einschlüsse der Zilienkanalzellen S. 279. — 3. Die Einschlüsse der Ampullenzellen S. 280. — 4. Die Strukturen des Bläschenkanals S. 281. — 5. Die Strukturen des „Inneren Epithels" der Endblase S. 282. — 6. Die Feinstruktur der Hüllzellen S. 283. — 7. Die Elementarfibrillen in den Kanalzellen S. 283. — 8. Die Blutkapillaren S. 284. — IV. Gedanken zur Anordnung des Nephridialkanals S. 286. — Zusammenfassung S. 287. — Literatur S. 289.

---

* D 188. Für die stete Förderung meiner Arbeit danke ich meinem Lehrer, Herrn Professor Dr. W. Ulrich, sowie den Herren Professoren Dr. E. Wiesenberger und Dr. K. Urich und dem Herrn Wissenschaftlichen Rat Dr. J. Brandenburg. Ein Original der Dissertation mit 80 elektronenmikroskopischen Aufnahmen und alle elektronenmikroskopischen Negative werden im I. Zoologischen Institut der Freien Universität aufbewahrt.

Einleitung

Bereits sehr früh, nachdem durch die Entwicklung der Ultradünnschnitt-Technik für die Elektronenmikroskopie nicht nur die Untersuchung von Natur aus dünner, leicht durchstrahlbarer Objekte, sondern ganzer Gewebe möglich geworden war (s. Sjöstrand 1953), hat man die Feinstruktur von Exkretionsorganen mit dem Elektronenmikroskop untersucht (Sjöstrand und Rhodin 1953). Vorher sind einige weniger erfolgreiche Versuche mit dickeren Schnitten unternommen worden (Granger und Baker 1950, Dalton, Kahler und Lloyd 1951).

Das starke Interesse an diesen Organen erklärt sich sicher durch die seit längerer Zeit bekannten hohen Transportleistungen der Exkretionsorgane, die besonders strukturelle Differenzierungen erwarten ließen. Eine Reihe mir bekannter elektronenmikroskopischer Arbeiten an Exkretionsorganen sind auf Tabelle 1 (s. S. 265 f.) zusammengestellt. Hierzu kommt noch eine große Zahl von Bearbeitungen der Malpighischen Körperchen von Wirbeltiernieren, deren Aufzählung im Rahmen dieser Arbeit zu weit führen würde.

In allen bisher elektronenmikroskopisch untersuchten Exkretionsorganen, sowie in anderen Geweben, von denen hohe Transportleistungen bekannt sind, wurden besonders zwei sehr auffällige Differenzierungen der Zellmembran beobachtet. Die den Lumina der betreffenden Organe zugewandte, apikale Zelloberfläche ist häufig durch eine große Zahl einseitig verschlossener, zylinderförmiger Zellausstülpungen ausgezeichnet, die man „Mikrovilli" nannte. Die dem Lumen abgewandte, basale Zelloberfläche, in wenigen, später zu diskutierenden Fällen, die apikale Zelloberfläche (s. S. 265), zeigt häufig eine Anzahl Einfaltungen der Membran tief in das Zellplasma hinein. In Exkretionsorganen können beide Bildungen bei einer einzigen Zelle auftreten. Da man weiß, daß diese Zellen in der Lage sind, Stoffe in zwei Richtungen zu transportieren, liegt die Annahme nahe, daß Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen der Oberflächenvergrößerung und damit der Erleichterung des Stoffdurchtritts dienen.

Die interessante Parallele zwischen dem Auftreten einer Feinstruktur und bestimmten Fähigkeiten der Zellen sollte in dieser Arbeit durch die Erweiterung des Vergleichs auf ein bisher elektronenmikroskopisch nicht untersuchtes Exkretionsorgan geprüft werden. Wie aus Tab. 1 hervorgeht, ist meines Wissens bisher kein

Metanephridium elektronenmikroskopisch bearbeitet worden. Es wurde deshalb beschlossen, das Metanephridium des Regenwurmes *Lumbricus terrestris* L. zu untersuchen. Für die Wahl dieses Objektes war die Möglichkeit ausschlaggebend, jederzeit ausreichend Tiermaterial zu erhalten und die Tatsache, daß das Nephridium des Regenwurmes bereits lichtmikroskopisch sehr gut bekannt war.

Es sollte besonders auf die beiden Membrandifferenzierungen Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen geachtet werden. Daneben wurden von anderen Exkretionsorganen abweichende Feinstrukturen erwartet, da im Gegensatz zu den bisher elektronenmikroskopisch untersuchten Exkretionsorganen Protonephridien, Coxaldrüsen, Antennendrüsen und Wirbeltiernieren, die im Körper blind enden, die Metanephridien mit einer deutlichen Trichteröffnung in der Cölomhöhle beginnen.

Wegen der Größe des Objektes wurde beschlossen, den Rahmen der Arbeit einzuschränken. Es wird hier nur der Nephridialkanal und das umgebende Gewebe des Nephridiums betrachtet, der recht komplizierte Bau des Trichters wird nicht geschildert.

Diese Untersuchung wurde unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. W. Ulrich am Zoologischen Institut der Freien Universität Berlin in der Zeit vom Februar 1959 bis zum März 1961 ausgeführt.

A. Die Bearbeiter, allgemeiner Aufbau des Nephridiums und Nomenklatur der Kanalabschnitte

Gegenbaur (1853) erkannte als erster die exkretorische Funktion des Metanephridiums. Vorher waren Metanephridien für „Tracheen", „Innere Kiemenapparate" (Willis, zitiert nach Gegenbaur 1853) und danach für „Weibliche Geschlechtsorgane" (Home, zitiert nach Gegenbaur 1853) gehalten worden.

Die Beschreibung, die Gegenbaur (1853) vom Kanalverlauf gibt, ist bereits im wesentlichen richtig. Goehlich (1890) gibt eine weniger übersichtliche Darstellung. Die Untersuchung von Benham (1891) ist die Grundlage für alle folgenden Arbeiten. Er erweitert Gegenbaurs Beschreibung um histologische Einzelheiten und stellt Beobachtungen am Trichter richtig. Sein Schema vom Verlauf des Kanals ähnelt sehr dem Gegenbaurs und ist durch die Eintragung der mit Zilien besetzten Kanalabschnitte erweitert. K. C. Schneider (1902) und besonders Maziarski (1903) geben eine ausführliche Darstellung der Histologie der einzelnen Teile des Nephridiums. Um die Aufklärung des komplizierten Aufbaus des Trichters haben sich nach Benham (1891) besonders Rosen (1911) und Goodrich (1933) bemüht. Einzelheiten über den Bau des Nephridiums sind außerdem in den Untersuchungen über dessen Funktion von G. Schneider (1896, 1899), Willem und Minne (1899/1900), Cuénot (1898), Cordier (1934) und Ramsay (1949/50) enthalten.

Die Exkretionsorgane der Lumbriciden sind in jedem Segment mit Ausnahme der vorderen Metameren paarig auftretende große Metanephridien. Sie beginnen in der Cölomhöhle mit einer Trichteröffnung und münden durch einen Nephridioporus nach außen.

Nach den oben erwähnten Untersuchungen ergibt sich im einzelnen folgendes Bild:

Das Nephridium beginnt mit einer am hinteren Dissepiment eines Segmentes befestigten Trichteröffnung („Nephrostom", „Nephridiostrom") und setzt sich im folgenden Segment als mehrfach gewundener Kanal fort, der schließlich nach außen mündet. Einzelne Schlingen des Kanals werden von „Bindegewebszellen" (B e n h a m 1891) oder „Hüll-" bzw. „Mantelzellen" (M a z i a r s k i 1903) zu Einheiten zusammengefaßt, die die Autoren „Schleifen" nennen. Es wird eine „erste" („kleine", „kurze") von einer „zweiten" („großen", „langen") „Schleife" unterschieden. Ein Kanalabschnitt und die muskulöse Endblase, die beide nicht von „Hüllzellen" umgeben sind, bilden die „dritte Schleife".

Das ganze Nephridium ist mit Ausnahme kleiner Bereiche am Trichter von Cölomepithel umgeben. Die Schleifen sind untereinander und mit der Körperwand durch ein bindegewebiges Septum verbunden.

Innerhalb des Kanalverlaufes werden auf Grund der unterschiedlichen Struktur verschiedene Kanalabschnitte unterschieden. Die Nomenklatur dieser Tubulusabschnitte ist recht kompliziert, da die meisten Autoren eigene Bezeichnungen benutzt haben, die von denen anderer Bearbeiter abweichen. Aus diesem Grunde wurden in der vorliegenden Arbeit von den bereits bestehenden Namen die ausgewählt, die besonders treffend erschienen. In zwei Fällen wurde ein Abschnitt neu benannt.

Vom Trichter aus führt ein bewimpertes Kanalstück zur „ersten Schleife".

In der Literatur findet sich keine Bezeichnung. In dieser Arbeit wird der Abschnitt „T r i c h t e r h a l s" genannt.

Auf den „Trichterhals" folgt ein sehr langer Abschnitt, der im Lichtmikroskop keine Besonderheiten zeigt. Da dieser Kanalteil im Vergleich zu allen anderen Kanalabschnitten am stärksten gewunden ist, nennt K. C. S c h n e i d e r (1902) ihn „S c h l e i f e n k a n a l". Die Bezeichnungen „dünner Kanal" (B e n h a m 1891, C o r d i e r 1934) und „klarer Tubulus" (M a z i a r s k i 1903) erschienen mir weniger bezeichnend.

Es folgt der „Zilienkanal“ (Maziarski 1903, Cordier 1934), auch „Wimperkanal“ (K. C. Schneider 1902), „Mittlerer Tubulus“ (Ramsay 1949/50) genannt. Bei Benham (1891) finden sich mehrere Bezeichnungen zu einem Namen vereinigt („Short brownish ciliated middle tube“). Sämtliche Bezeichnungen sind zutreffend, es wird der Name „Zilienkanal“ übernommen.

Der jetzt folgende Abschnitt bis zur Blase wird häufig als Einheit betrachtet und „Weiter Tubulus“ (Benham 1891), „Drüsenkanal“ (K. C. Schneider 1902) genannt. Maziarski (1903) und Cordier (1934) beschreiben anstelle eines Kanalabschnittes drei, den anderen Nephridienteilen gleichberechtigte Kanalabschnitte. Da nach meinen elektronenmikroskopischen Befunden der Kanal bis zur Blase ebenfalls nicht einheitlich erscheint, soll auch hier eine Unterteilung vorgenommen werden. Seit Gegenbaur (1853) heißt die Kanalerweiterung am freien Ende der „großen Schleife“ „Ampulle“. Für den auf die „Ampulle“ folgenden Tubulusteil finden sich keine Bezeichnungen, die zutreffend sind. Nach Benham (1891) gehört dieser Abschnitt zum „weiten Tubulus“. Maziarski (1903) hebt hervor, daß dieser Kanalteil durchaus nicht ein besonders weites Lumen besitzt, sondern nach der Ampulle bald einen ähnlichen Durchmesser wie der Schleifenkanal annimmt. Maziarskis Bezeichnung “canal praeterminal” geht davon aus, daß der exkretorische Teil des Nephridiums an der Blase endet, so daß der hier diskutierte Kanalabschnitt der vorletzte aktive Teil ist. Es soll nicht nur keine Ausscheidung durch die Wand der Endblase erfolgen, sondern diese soll auch aus anderem embryonalen Material als die übrigen Nephridienteile entstehen. Nach Ansicht der neueren Bearbeiter entsteht jedoch das gesamte Nephridium vom Trichter bis zum Nephridioporus aus einer einheitlichen embryonalen Anlage (Goodrich 1945, Vandebroek 1934). Die Angabe, daß die Endblase nicht exkretorisch tätig sei, stützt sich nur auf Farbstoffversuche, die sicher nur einen kleinen Teil der Exkretionsgeschehen demonstrieren. Die der Bezeichnung „Drüsenkanal“ (K. C. Schneider 1902) zugrundeliegende Vorstellung, dieser Kanalteil sei vor allen anderen durch die Ausscheidung von Stoffen ausgezeichnet, ist bis heute nicht bewiesen. Bereits Goehlich (1890) wies darauf hin, daß Gegenbaurs (1853) Bezeichnung „Drüsiger Abschnitt“ nicht berechtigt ist. Nach stäbchenförmigen Differenzierungen des basalen Plasmas der Kanalzellen

nennt Cordier (1934) den ersten Teil des hier diskutierten Abschnittes „erster Stäbchenkanal". Dieser Teil ist jedoch kaum von der „Ampulle" zu trennen und wird von mir im Zusammenhang mit der „Ampulle" behandelt.

In dieser Arbeit wird der Kanalabschnitt zwischen „Ampulle" und der Stelle, an dem der Nephridialkanal die „kleine Schleife" verläßt, nach einer elektronenmikroskopisch sichtbaren, sehr charakteristischen Differenzierung des Plasmas der Kanalzellen „Bläschenkanal" genannt (s. S. 231).

Der vorletzte Kanalabschnitt heißt nach besonders deutlichen stäbchenartigen Differenzierungen des basalen Zellplasmas bei den meisten Autoren „Stäbchenkanal" und soll auch hier so genannt werden.

Die Namen „Blase", „Endblase", „muskulöse Endblase" sind alle recht zutreffend.

Für den in der Körperwand zwischen der Blase und dem Nephridioporus verlaufenden Kanal finden sich keine Bezeichnungen. Da er im elektronenmikroskopischen Teil nicht behandelt wird, soll er hier auch nicht benannt werden.

Der Nephridialkanal zerfällt also in eine Reihe von Abschnitten mit unterschiedlicher Struktur. Die verschiedenen Abschnitte sollen hier folgendermaßen benannt werden: Trichter (alte Bezeichnung), Trichterhals (neue Bezeichnung), Schleifenkanal (alte Bezeichnung), Zilienkanal (alte Bezeichnung), Ampulle (alte Bezeichnung), Bläschenkanal (neue Bezeichnung), Stäbchenkanal (alte Bezeichnung).

B. Eigene Arbeiten

I. Material und Methoden

Es wurden Metanephridien des Oligochaeten *Lumbricus terrestris* L. untersucht. Die Tiere wurden als „Tauwürmer" von einer Angelsportfirma gekauft und bis zur Untersuchung in flachen Eternitschalen in Gartenerde gehalten.

Die Nephridien des Regenwurmes sind relativ groß. Aus diesem Grunde wurde darauf verzichtet, zu untersuchen, ob sich die Feinstruktur der Nephridien in den verschiedenen Körperregionen gesetzmäßig ändert. Um jedoch die Wahrscheinlichkeit dafür, daß ein nicht einheitliches Material untersucht wird, zu senken, wurden nur Nephridien der Segmente 19—32, seltener bis 40 benutzt. Es besteht durchaus die Möglichkeit, daß die Nephridien der einzelnen Segmente sich unterscheiden. Gegenbaur (1853) wies darauf hin, daß die Segmentalorgane in der Region des Muskelmagens (Segment 16—18) am größten sind und nach vorn und hinten kleiner werden. Außerdem ist die Gestalt des Darmes und Ausbildung des Blutgefäßsystems im Vorderkörper anders als in den

übrigen Körpersegmenten. Die Hoden liegen in den Segmenten 10 und 11, das Ovar im Segment 13. Der Samenleiter mündet im Segment 15, der Eileiter im Segment 14. Vom Segment 19 an scheint der Darm gleichmäßig ausgebildet zu sein. Er besitzt außen eine Schicht Chloragoggewebe und innen eine gut entwickelte Typhlosolis. Erst in den hinteren Segmenten wird der Darm dünn und die Typhlosolis ist zurückgebildet. Das Clitellum erstreckt sich über die Segmente 32—37.

I. Lichtmikroskopische Methoden

Untersuchungen des lebenden Organs: Wegen der Durchsichtigkeit des Nephridiums ist der Kanalverlauf am lebenden Organ gut zu verfolgen. In der „kleinen Schleife" ist die Beobachtung der Kanalanordnung schwieriger, da der Kanal kompliziert gewunden ist. Die Betrachtung im normalen Lichtmikroskop ist der Untersuchung im Phasenkontrastmikroskop wegen der Dicke des Objektes überlegen. Die Phasenkontrastuntersuchung wurde mit der Phasenkontrasteinrichtung der Firma Leitz vorgenommen.

Schnittserien: Ganze Tiere oder herausgeschnittene Nephridien wurden in dem Pikrinsäure-Essigsäure-Formol-Gemisch nach Bouin (Romeis 1948) oder in dem Pikrinsäure-Essigsäure-Formol-Alkohol-Gemisch nach Bouin, Dubosq, Brasil (Romeis 1948) fixiert, entwässert, in Paraffin eingebettet und 5—15 μ dick geschnitten. Außerdem wurden Nephridien in Osmiumsäurelösung nach Sjöstrand (1955) fixiert, wie oben eingebettet und geschnitten. Alle Schnittpräparate wurden mit Eisenhämatoxilin nach Heidenhain (Romeis 1948) gefärbt. Teilweise wurde mit Chromotrop gegengefärbt. Die Schnittserien wurden mit dem Mikroskop „Ortholux" der Firma Leitz untersucht. Zur Rekonstruktion dienten Aufnahmen mit der „Leica".

Doppelbrechung: Zur Prüfung auf geordnete Strukturen, die zur Doppelbrechung führen, wurden Gefrierschnitte auf dem Leitz Gefriermikrotom angefertigt und im Leitz Polarisationsmikroskop „Biopol" untersucht. Leider gelangen keine zufriedenstellenden Schnitte, aus denen man sichere Schlüsse auf die submikroskopische Struktur des Gewebes ziehen konnte.

Fluoreszenz: Viele Gewebe zeigen bei der Bestrahlung mit kurzwelligem Licht eine Fluoreszenz, ohne vorher mit fluoreszierenden Farbstoffen behandelt worden zu sein („Eigenfluoreszenz", s. Sjöstrand 1945/46). Ganze Nephridien und Gefrierschnitte wurden auf Eigenfluoreszenz untersucht. Hierzu diente die „Große Fluoreszenzeinrichtung" der Firma Zeiss. Es wurde mit Ultraviolett-Licht (etwa 3100 Å) und Blauviolett-Licht (etwa 3600 Å) angeregt. Wie bei der Untersuchung auf Doppelbrechung waren die Gefrierschnitte nicht brauchbar. Außerdem wurden Nephridien mit dem Fluoreszenzfarbstoff Acridinorange behandelt und nachfolgend untersucht. Die Anordnung der Kanalabschnitte war hierbei besonders gut zu erkennen.

2. Elektronenmikroskopische Methoden

Fixierung: Wegen der geringen Diffusionsgeschwindigkeiten der in der Elektronenmikroskopie gebräuchlichen Fixierungsmittel können nur kleine Gewebestücke verwendet werden. Mit Ausnahme einiger Fälle für die Permanganat-Fixierung, die schneller als Osmiumsäure einzudringen scheint, wurden nur Einzelteile ganzer Nephridien fixiert.

Präpariert wurde in einer physiologischen Mineralsalzlösung für Regenwürmer nach Prosser und Zimmerman (1943).

Die Fixierungsflüssigkeiten waren eisgekühlt. Es wurden folgende Fixierungen benutzt:

(1) etwa 0,7 %oige gepufferte und für die meisten Wirbeltiergewebe isotonische Osmiumsäurelösung nach Sjöstrand (1955).

(2) 1 %oige gepufferte Osmiumsäurelösung nach Palade (1952), die ohne Zugabe osmotisch aktiver Substanzen nicht gewebsisotonisch ist.

(3) Osmiumsäure-Chromsäure-Gemisch nach Dalton (1955), für die meisten Wirbeltiergewebe isotonisch.

(4) 0,6 %oige Kaliumpermanganat-Lösung nach Luft (1956), gepuffert, ohne Kochsalzgaben nicht gewebsisotonisch.

(5) Osmiumsäurelösung nach Sjöstrand (1955) und nachfolgend Permanganat nach Luft (1956).

(6) 4 %oiges Formol, neutral, im Phosphatpuffer, danach Permanganat nach Luft (1956).

Entwässerung: Die fixierten Objekte wurden eine Stunde in physiologischer Mineralsalzlösung nach Prosser und Zimmerman (1943) oder in „Stammlösung B" nach Sjöstrand (1955) unter mehrfachem Wechsel der Waschflüssigkeit gewaschen. Danach wurden sie in steigender Alkoholreihe entwässert. Während des ganzen Vorganges wurden die Objekte im Kühlschrank bei + 4° C gehalten.

„Nachkontrastierung": Nach dem Auswaschen in Mineralsalzlösung wurden mit Osmiumsäure fixierte Objekte teilweise zur Erhöhung des Kontrastes mit einer 0,5 %oigen Uranylacetatlösung nach Strugger (1956) behandelt. Die meisten mit Osmiumsäure fixierten Präparate wurden jedoch auf der Stufe des 70 %oigen Alkohols mit einer 1 %oigen Phosphorwolframlösung nach Wohlfahrt-Bottermann (1956) „nachkontrastiert". Nach der Fixierung mit Permanganat wurden die Schwermetallsalze nur wenige Male zu Versuchszwecken benutzt.

Einbettung: Zur Einbettung der entwässerten Gewebestücke wurde ein Methyl- (hart) Buthylmethacrylat (weich) im Verhältnis 1 : 20 oder das Einbettungsmittel „Plexigum" (Bayer und Peters 1959) benutzt. „Plexigum" wird wie die Metacrylate in einer harten („P 7466") und einer weichen („P 7479") Form geliefert. Es wurden Mischungen im Verhältnis 1 : 3 und später 1 : 1 angewendet. Aus dem Methacrylat wird vor der Benutzung der enthaltene Stabilisator mit Natronlauge nach der Anleitung von Newman, Borysko und Swerdlow (1949) entfernt. „Plexigum" wird gebrauchsfertig geliefert. Das Methacrylatgemisch polimerisiert unter Zusatz von 1 % Benzoylperoxyd bei + 60° C im Wärmeschrank. Dem „Plexigum" wird eine mitgelieferte Härterlösung beigefügt.

Orientierung der Gewebestücke: Zur Orientierung in dem komplizierten Kanalverlauf des Nephridiums ist es notwendig, das Objekt in bestimmter und bekannter Lage einzubetten. Man erhält die gewünschte Lage, wenn man, wie in anderen, ähnlich gelegenen Fällen, das bereits eingebettete Präparat zusammen mit dem umgebenden Plexiglas in Würfelform ausschneidet und ein zweites Mal, dieses Mal genau orientiert, einbettet. Bei „Plexigum" war die Anwendung dieses Verfahrens nicht möglich, da der gehärtete Kunststoff in flüssigem „Plexigum" aufquillt und die Objekte dabei zerreißen. Daraufhin wurden die mit dem gehärteten Kunststoff zusammen ausgeschnittenen Gewebeblöcke auf ein größeres Stück Plexiglas oder polimerisiertes „Plexigum" aufgeklebt. Als besonders haltbarer Klebstoff erwies sich hierbei „UHU plus", ein Alleskleber auf Basis des Kunststoffes „Araldit".

Ultradünnschnitte und elektronenmikroskopische Beobachtung: Die Schnitte wurden auf einem Serval Porter-Blum Mikrotom der Firma Sorvall mit Glasmessern angefertigt.

Die Beobachtungen wurden im „Elmiskop II" der Firma Siemens vorgenommen. Die Aufnahmen erfolgten auf „Perutz Kontrast" Platten im Format 6,5 × 9 cm. Es wurden elektronenmikroskopische Vergrößerungen von 1500 ×, 7000 ×, 15 000 × benutzt. Die lichtoptischen Nachvergrößerungen wurden mit dem „Leitz Focomat"-Vergrößerungsapparat vorgenomen.

Es wurden etwa 1270 Aufnahmen von den hinter dem Trichter gelegenen Teilen angefertigt. Diese verteilen sich wie folgt auf die einzelnen Nephridienteile: etwa 750 Aufnahmen der „großen Schleife", etwa 160 Aufnahmen der „kleinen Schleife", etwa 100 Aufnahmen des Stäbchenkanals, etwa 110 Aufnahmen der Endblase. Der Rest entfällt auf Chloragogzellen, Cölomzellen und andere Teile, die sich nicht eindeutig einordnen lassen. Die verhältnismäßig hohe Zahl von Aufnahmen der „großen Schleife" erklärt sich durch die Größe, die Verschiedenheit der Strukturen und dadurch, daß alle Fixierungsversuche zunächst an diesem Nephridienteil erfolgten.

Charakteristika der Fixierungs- und Einbettungsmethoden, Änderung einzelner Parameter: Die elektronenmikroskopische Untersuchung von Feinstrukturen geht in einem Größenbereich vor sich der keine Überprüfung der Ergebnisse am lebenden Objekt gestattet. Die Möglichkeit, an Gefrierschnitten mit Hilfe der Doppelbrechung Aufschlüsse über feine, geordnete Strukturen zu erhalten, bestand nicht, da keine geeigneten Gefrierschnitte gelangen. Aus diesem Grunde erschien es mir angebracht, eine größere Zahl von Methoden zu benutzen, um die Möglichkeit der Artefaktbildung zu übersehen.

Der Wirkungsmechanismus der in der Elektronenmikroskopie benutzten Fixierungs- und Weiterbehandlungsmethoden ist weitgehend unbekannt. Deshalb ist man bei der Bearbeitung eines bisher nicht untersuchten Objektes auf eine Reihe von Versuchen angewiesen, durch die man eine geeignete Methode empirisch finden muß. Die Argumente darüber, was man für eine geeignete Methode halten will, sind meist nur indirekter Art. Zu diesen Schwierigkeiten kommt, daß die mit einer Methode erhaltenen Ergebnisse nicht immer reproduzierbar sind. Dies könnte an Vorgängen im Gewebe selbst liegen („physiologischer Zustand"). Im folgenden werden einige Beobachtungen über typische Bilder, die man bei Anwendung der verschiedenen Methoden erhält, zusammengestellt. Es wird angegeben, welche Einzelheiten bei den Methoden verändert wurden.

(1) Die Fixierung mit Osmiumsäure nach Sjöstrand (1955) ist für Wirbeltiergewebe entwickelt worden. Im Nephridium scheint sie zu Schrumpfungen zu führen (s. S. 242 ff). Gut erhalten sind alle fibrillären Strukturen. Das Grundplasma erscheint granulär. Feine Membranstrukturen, wie kleine Bläschen und dergleichen, sind oft weniger gut erhalten als bei der Fixierung mit Permanganat. Eine Ausnahme machen hierbei die Bläschenstrukturen des Bläschenkanals (s. S. 231). Mitochondrien haben eine sehr dunkle Matrix, so daß die „Cristae mitochondriales" nur selten zu erkennen sind. Die Kerne zeigen kontrastreiche Innenstrukturen, die man wegen der Ähnlichkeit mit Bildern nach spezifischen lichtmikroskopischen Methoden für Chromatin hält. Wenn ein Nukleolus vorhanden ist, dann ist auch dieser immer recht deutlich. Die kontrastreiche Abbildung der Innenstrukturen von Kernen ist wohl auf die Nachkontrastierung mit Schwermetallsalzen zurückzuführen.

Es wurden Fixierungszeiten von 2, 4, 6—8 und 20 Stunden versucht. Eine Einwirkung des Fixierungsmittels von 2 Stunden war im allgemeinen zu kurz. Ab 4 Stunden wurden gute Ergebnisse erreicht. 6—8 Stunden Fixierung ergab praktisch die gleichen Ergebnisse wie 4stündige Fixierung. 20 Stunden wurde nur einmal fixiert. Eine Reihe von Bestandteilen scheinen hierbei aus dem Gewebe herausgelöst zu werden. Von ähnlichen Erfahrungen berichtet Reimer (1959).

(2) Das Fixierungsmittel nach Palade (1952) enthält keine Substanzen zum osmotischen Ausgleich und ist daher hypotonisch gegenüber den meisten Geweben. Im Nephridium führt es gegenüber anderen Fixierungen zu Quellungen. Diese Fixierung hat jedoch den großen Vorteil, daß man osmotisch aktive Substanzen nach eigenem Ermessen hinzufügen kann und so die geeignete Mineralsalzkonzentration für das gerade untersuchte Objekt ausprobieren kann. Es wurden 0,2 %, 0,4 %, 0,6 % Kochsalz hinzugegeben. 0,4 % Kochsalz ergab die besten Ergebnisse.

Die Bilder von nach Palade (1952) fixierten Objekten zeigen ein dunkleres Gewebe als Bilder nach Sjöstrand (1955) fixierte Gewebe. Dies scheint an der höheren Osmiumsäurekonzentration (1 % gegenüber 0,7 %) der Lösung nach Palade (1952) gegenüber der nach Sjöstrand (1955) zu liegen. Sonst gleichen die Bilder denen, die man nach der ersten Fixierung erhält.

(3) Die Fixierung mit einem Osmiumsäure-Chromsäure-Gemisch nach Dalton (1955) ergab keinen Vorteil gegenüber den anderen Fixierungen mit Osmiumsäure. Diese Fixierung wurde deshalb nur zweimal zu Versuchszwecken angewendet.

(4) Kaliumpermanganat erscheint einem als Vergleichsfixierung gegenüber den Osmiumsäure-Lösungen besonders geeignet, da Permanganat gegenüber der „lipophilen" Osmiumsäure vorwiegend „hydrophil" ist und damit ein von Fixierungen mit Osmiumsäure abweichender Mechanismus zu erwarten ist. Im Prinzip sind die nach beiden Fixierungen erhaltenen Strukturen jedoch gleich.

Wie die Fixierungsflüssigkeit nach Palade (1952) enthält die Flüssigkeit nach Luft (1956) in der ursprünglichen Form keine Substanzen zum osmotischen Ausgleich mit dem zu untersuchenden Geweben. Sie führt in dieser Form im Nephridium zu Quellungen, die besonders deutlich an den Mitochondrien sichtbar sind. Die Mitochondrien runden sich ab und die Cristae zerreißen. Um diese Quellungen zu vermeiden, mußten relativ hohe Kochsalzkonzentrationen angewendet werden. Es wurden 0,6 %, 0,9 %, 1,2 % Kochsalz hinzugegeben. Die Zugabe von 0,9 % NaCl zur gepufferten, neutralen 0,6 %igen Permanganatlösung erwies sich als am günstigsten. Die Mitochondrien erschienen gegenüber den mit Osmiumsäure fixierten zwar immer noch etwas gequollen, höhere Konzentrationen führen an anderen Stellen jedoch bereits wieder zu Schrumpfungen.

Mit Ausnahme bestimmter Strukturen in Bläschenkanalzellen stellt die Permanganat-Fixierung im Nephridium Plasmabestandteile besser dar als Osmiumsäurelösung (s. Aufn. 4, 9). Das Grundplasma erscheint gleichmäßiger, Golgiapparate und kleine Bläschen werden kontrastreich abgebildet. Mitochondrien haben eine helle Grundsustanz und deutliche Cristae. Auf der anderen Seite hat diese Fixierung auch große Nachteile, die sie als alleiniges Fixierungsmittel ungeeignet macht. Wie bereits Luft (1956) angibt, werden Muskelfilamente, Filamente in Zilien und andere fibrilläre Strukturen undeutlich oder gar nicht abgebildet. Außerdem führte die Permanganat-Fixierung bei allen Objekten zu grobkörnigeren Strukturen,

Das grobe Korn tritt bei stärkeren Vergrößerungen unangenehm in Erscheinung.

(5) Es wurde versucht, die Vorteile der Osmiumsäure-Fixierung und der Permanganat-Fixierung in einem Präparat gemeinsam auszunutzen.

Osmiumsäure-Fixierung nach Sjöstrand (1955) und nachfolgende Fixierung mit Permanganat nach Luft (1956) ergab verwaschene und kontrastarme Bilder. In der lichtmikroskopischen Methodik wird Permanganat zum Bleichen von durch Osmiumsäure zu dunkel gewordenen Präparaten benutzt (Romeis 1948). Das stärkere Oxydationsmittel Permanganat ist vermutlich in der Lage, die in das Gewebe eingelagerten niedrigen Oxyde des Osmiums wieder zum Osmiumtetroxyd zu oxydieren, das aus dem Gewebe ausgewaschen wird. Das Gewebe scheint dabei so weit verändert zu werden, daß keine Oxyde des Mangans eingelagert werden können. Da mit dieser Methode nur einmal fixiert wurde, ist es jedoch nicht erlaubt, zuweit gehende Schlüsse zu ziehen.

Die zweite Kombination, zuerst Fixierung mit Permanganat und anschliessend Behandlung mit Osmiumsäure, wurde nicht verursacht, da Hansen (1962) an unserem Institut mit dieser Methode Aufnahmen erhielt, die sich nicht wesentlich von meinen Bildern nach Fixierung mit Permanganat unterschieden.

(6) In der Lichtmikroskopie gilt neutrales, gepuffertes Formol als schonendes Fixierungsmittel. Beim Nephridium ergab die Formolfixierung für die elektronenmikroskopische Untersuchung keine brauchbaren Ergebnisse. Alle Membransysteme sind schlecht erhalten. Nach Reimer (1959) fixiert Formol schlecht Lipide, die einen wesentlichen Bestandteil aller Membranen ausmachen.

Einbettung: In dieser Arbeit wurden zwei Einbettungsmittel benutzt, ein Methacrylatgemisch und das Einbettungsmittel „Plexigum".

Es ist seit einiger Zeit bekannt (Bayer und Peters 1959), daß bei der Einbettung mit Methacrylat Zerstörungen der Feinstruktur auftreten können. Besonders häufig zerreißen die Cristae in den Mitochondrien. Man hat angenommen, daß dieses grobe Artefakt durch eine ungleichmäßige Polymerisation wegen des Restwassers und kleiner Luftbläschen hervorgerufen wird.

Besonders drastisch sind die Zerstörungen bei der Einbettung mit Permanganat fixierter Objekte. Beim Nephridium ist eine Erhaltung der Strukturen nach Luft (1956) fixierter Gewebe im Methacrylatgemisch nur selten vorgekommen. Bayer und Peters (1959) berichten von einem Kunststoff „Plexigum", der besonders zur Einbettung nach Fixierung mit Permanganat geeignet ist. Es handelt sich hierbei um polymere Acrylsäureester. Bei der Benutzung dieses Einbettungsmittels wurden weder in Präparaten, die mit Osmiumsäure fixiert waren, noch bei solchen, die mit Permanganat behandelt waren, Zerstörungen beobachtet. Der Kontrast schien mir geringer zu sein als bei der Methacrylat-Einbettung. Außerdem ist es schwer, die dem Gewebe entsprechende Härte des Kunststoffes zu erreichen. Häufig polymerisieren Teile eines „Plexigum"-Blockes nur unvollständig.

II. Ergebnisse

1. Lichtmikroskopische Untersuchung

Vor der elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden die lichtmikroskopischen Befunde der bereits erwähnten Autoren (s.

S. 191 ff.) an Schnittserien und am Totalpräparat nachgeprüft. Die Anordnung des Nephridialkanals entspricht im wesentlichen den Schemata, die Gegenbauer (1853), Benham (1891) und Maziarski (1903) geben. Es sollen hier nur Beobachtungen über den Verlauf des Kanals in der „kleinen" und der „großen Schleife" und über „Eigenfluoreszenz" kurz geschildert werden.

In der „kleinen (kurzen, ersten) Schleife" sind die Kanalabschnitte kompliziert umeinander gewunden. Nach meinen Beobachtungen beteiligen sich nur der hin- und rückläufige Schenkel des Schleifenkanals an diesen Windungen, wie es bereits in den Schemata von Gegenbauer (1853) und Benham (1891) eingetragen ist. Eine irgendwie gesetzmäßige Anordnung der Windungen konnte ich nicht feststellen, das Bild ist bei jedem Nephridium etwas anders. Außerdem fiel mir auf, daß die Kanäle in der „großen (langen, zweiten) Schleife" nicht, wie die genannten Autoren angeben, einfach parallel nebeneinanderherlaufen, sondern, daß der Zilienkanal und die Ampulle, beziehungsweise deren Fortsetzung, der Bläschenkanal, in allen untersuchten Nephridien an einer Stelle ihre Lage wechseln. Der Kanalabschnitt, der vorher außen am Rand der „Schleife" lag, befindet sich nachher mitten im Gewebe der „Schleife". Umgekehrt findet man den Tubulus, der erst in der Mitte der „Schleife" lag, später außen am Rand (s. Abb. 1, 2). Diese

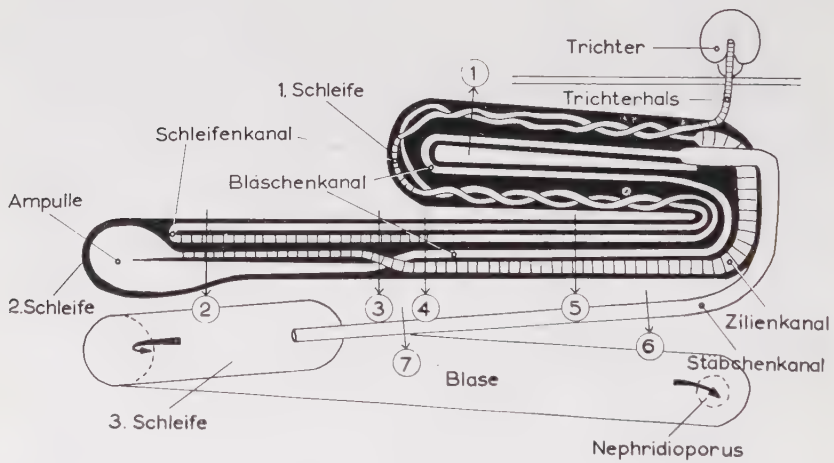


Abb. 1. Schema der Anordnung des Nephridialkanals in den 3 „Schleifen" des Nephridiums. Die Zahlen weisen auf die in Abb. 2 skizzierten Schnitte hin. Gestreift = Kanalabschnitte mit Zilien. Nach Schnitten, Totalpräparaten und den Schemata von Gegenbaur (1853) und Benham (1891).

Anordnung erscheint erwähnenswert, da der Tubulusabschnitt in der Mitte der Schleife vollständig von Hüllzellen umgeben ist, denen, wie später geschildert wird (s. S. 283), nach ihrer auffälligen Feinstruktur sicher besondere Funktionen zukommen. Die Vorgänge in diesen Zellen sind allerdings noch nicht bekannt.

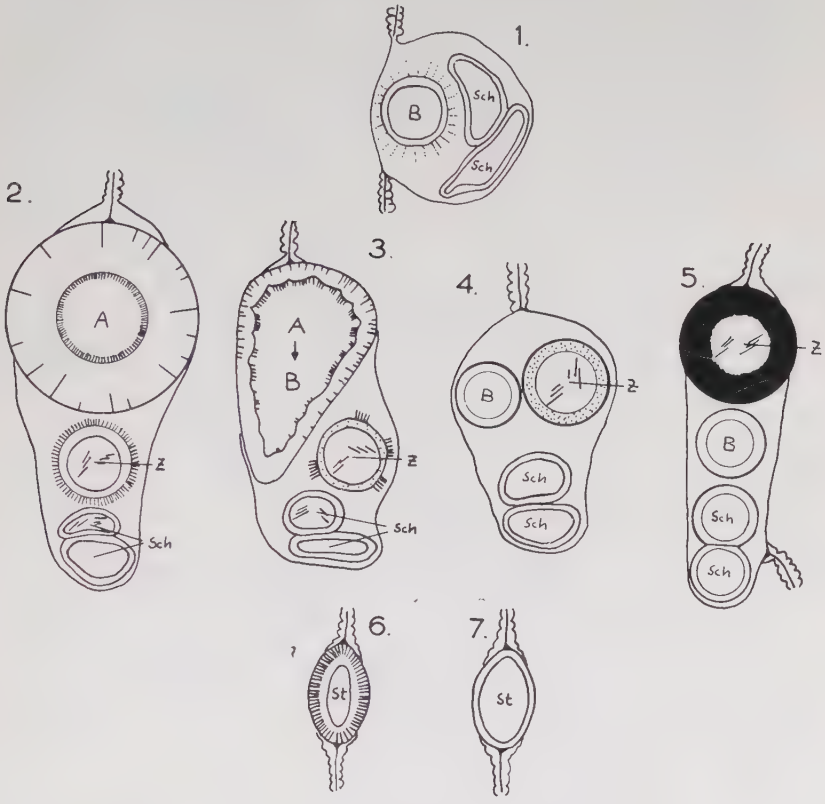


Abb. 2. Schemata der Querschnitte durch die in Abb. 1 bezeichneten Regionen der Nephridien-„Schleifen". A = Ampulle; B = Bläschenkanal; Sch = Schleifenkanal; St = Stäbchenkanal; Z = Zilienkanal. Zu erkennen sind die Ansatzstellen der „Aufhängesepten" (s. S. 192). Nach lichtmikroskopischen Schnitten.

Eigenfluoreszenz: Totalpräparate des Nephridiums wurden auf Eigenfluoreszenz untersucht. Bei Anregung mit „Blauviolett"-Licht zeigten der Zilienkanal und die Ampulle lebhafte Fluoreszenz. Der Zilienkanal fluoreszierte hellgrün, die Ampulle gelblich. Der Zilienkanal fluoreszierte am stärksten an Stellen, an denen die meisten Granula eingelagert waren. Außerdem fluoreszierten einige Amöbocyten.

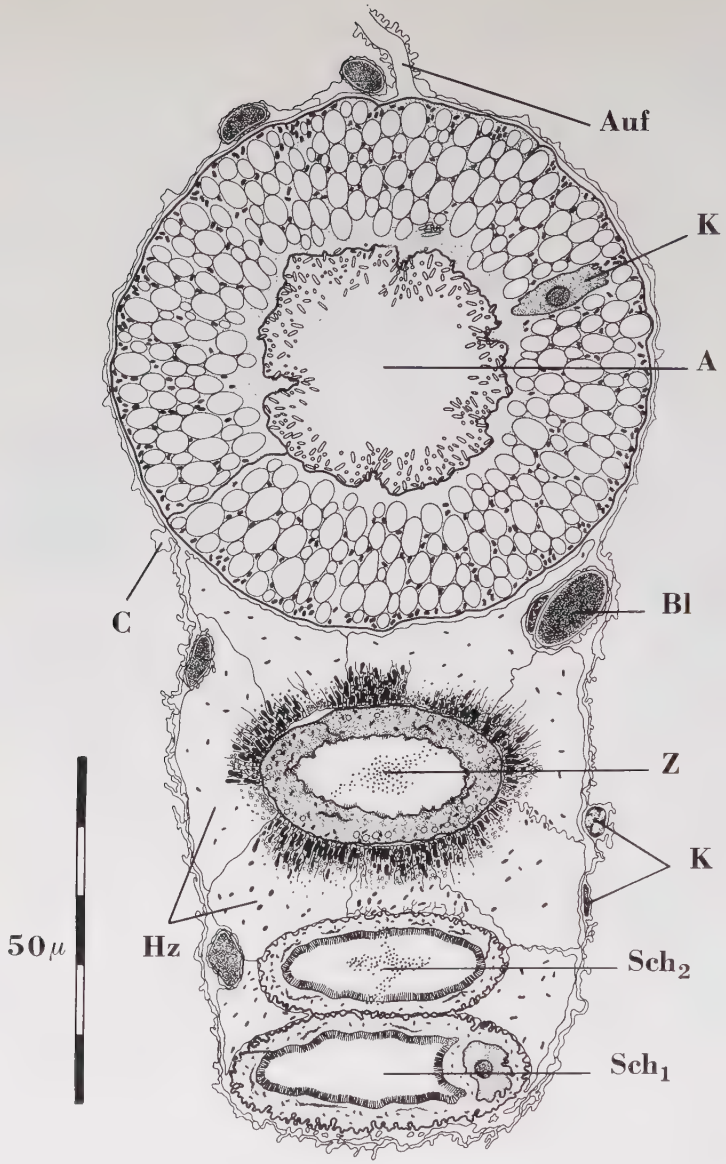


Abb. 3. Querschnitt durch die „lange (große, zweite) Schleife“ in der Nähe des freien Endes. A = Ampulle; Z = Zilienkanal; Sch_1 = erster, Sch_2 = zweiter Schenkel des Schleifenkanals; C = Cölomepithel; Hz = Hüllzellen; K = Kerne; Bl = Blutgefäß; Auf = Ansatzstelle des „Aufhängeseptums“ (s. Abb. 2). Dieser Schnitt entspricht Abb. 2, 2. Nach elektromikroskopischen Schnitten.

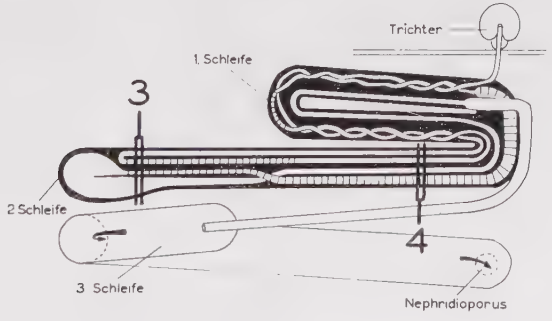
2. Elektronenmikroskopische Untersuchung

2, 1 Orientierung im Nephridium nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen

Vor der Behandlung von Einzelheiten aus der Feinstruktur der Kanalabschnitte soll hier eine Orientierung im Nephridium nach elektronenoptischen Bildern vorgenommen werden. Zur besseren Übersicht werden hierzu Querschnitte durch die „Schleifen" benutzt. Es wird mit der Schilderung der Verhältnisse in der „großen Schleife" begonnen, weil die Anordnung der Kanalabschnitte dort sehr konstant ist und deshalb ein Vergleich mit lichtmikroskopischen Präparaten leicht möglich ist.

Bei einem Querschnitt durch eine Nephridien-„Schleife" erwartet man vor allem drei verschiedene Gewebe, außen das Cölomepithel, innen in bestimmter Anordnung die Anschnitte des Nephridialkanals mit den ringförmigen Kanalzellen und die Hüllzellen, die ganz oder teilweise die Kanalzellen umgeben.

Abb. 3 zeigt schematisch einen Querschnitt durch das Gebiet in der Nähe des freien Endes der „großen Schleife". Dieses Schema ist nach einer großen Zahl elektronenmikroskopischer Aufnahmen gezeichnet und entspricht Abb. 2, 2, S. 201. Es sind Anschnitte von 4 Kanalabschnitten zu sehen. Der oben eingetragene Kanalabschnitt hat eine dicke Wandung, in der sich eine große Zahl von Einschlüssen befinden. Im Lumen sieht man stäbchenförmige Gebilde, bei denen es sich, wie erst später gezeigt werden kann (s. S. 226), um Anschnitte von Bakterien handelt. Nach diesen Merkmalen muß es sich um einen Querschnitt durch die Ampulle handeln.



Lage der Abb. 3 und 4

Von den drei übrigen Anschnitten enthalten zwei Zilien. In dieser Region der „Schleife" treten Zilien im Zilienkanal und in einem Schenkel des Schleifenkanals auf. Nach der Lage (vgl. Abb. 1, 2) gehört der unter der Ampulle gelegene Anschnitt zum Zilienkanal, die darunter gelegenen Kanalanschnitte gehören zum Schleifenkanal. Für diese Zuordnung sprechen noch weitere Beobachtungen. Um den Zilienkanal entwickeln die Hüllzellen einen Saum von senkrecht auf die Längsachse des Kanals orientierten Membranen, zwischen die Mitochondrien eingelagert sind. Wie später (s. S. 245) angegeben wird, ist diese Struktur für die in Abb. 2,[2] eingetragene lichtmikroskopisch sichtbare, seit längerer Zeit bekannte Stäbchenbildung um den Zilienkanal verantwortlich (Maziarski 1903). Dazu kommt, daß auf einem Längsschnitt der Übergang vom Zilienkanal in die Ampulle getroffen wurde. Außerdem stehen die für die beiden Schenkel des Schleifenkanals gehaltenen Tubulusabschnitte wie im lichtmikroskopischen Präparat auch auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen immer miteinander in Berührung. Die Zellen beider Schenkel des Schleifenkanals tragen auf ihrer apikalen Zelloberfläche übereinstimmend einen Stäbchensaum aus eng stehenden Mikrovilli.

Die Hüllzellen sind von allen anderen Zellen des Nephridiums durch ihre Fülle an Membranstrukturen unterschieden. In der Nähe des freien Endes der „langen Schleife" sind diese Membranen fast ganz auf das Gebiet um den Zilienkanal beschränkt. In anderen Teilen dieser „Schleife" und in der „kurzen Schleife" sind die Hüllzellen vollständig mit Membranen angefüllt, zwischen denen sich Mitochondrien befinden. Wie man auf Abb. 3 sieht, umgeben die Hüllzellen den Nephridialkanal in seinen einzelnen Abschnitten nicht gleichmäßig. Vollständig eingeschlossen ist der Zilienkanal. Die Schenkel des Schleifenkanals sind nur teilweise eingehüllt, besonders der nicht Zilien tragende Schenkel hat nur eine sehr geringe Berührungsfläche mit Hüllzellen. Die Ampulle ist zum größten Teil direkt vom Cölomepithel eingeschlossen.

Abb. 4 zeigt einen Schnitt durch ein mehr ventral gelegenes Gebiet der „langen Schleife" entsprechend Abb. 2, 5. Oben in Abb. 4 ist, wie im vorigen Schema, ein Kanalabschnitt mit dicker Wandung angeschnitten. Die im Lumen erkennbaren Zilien zeigen, daß es sich um den Zilienkanal handeln muß, da in dem betreffenden Gebiet der „langen Schleife" nur dieser Kanalabschnitt Zilien trägt (s. Abb. 1). Nach lichtmikroskopischen Beobachtungen haben ja der

Zilienkanal und die Ampulle (bzw. der Bläschenkanal) ihre Lage gegenüber der in Abb. 3 vertauscht (s. S. 200).

Unten in Abb. 4 sind zwei Kanalabschnitte angeschnitten, die ich wegen der Anordnung in der „Schleife", wegen des engen Zusammenhaltes beider Anschnitte und wegen der Ausbildung eines Mikrovillisaumes für Anschnitte des Schleifenkanals halte.

Als vierten Kanalabschnitt erwarten wir in dieser Region die Fortsetzung der Ampulle, den Bläschenkanal. Dieser Teil des Nephridialkanals muß sich nach lichtmikroskopischen Befunden zwischen dem Anschnitt des Zilienkanals und den beiden Querschnitten durch den Schleifenkanal befinden. An der angegebenen Stelle sieht man den Anschnitt eines Kanals, der in seiner Feinstruktur keine Ähnlichkeit mehr mit der Ampulle hat. Die Kanalwand ist dünn und das Kanallumen ist auf elektronenmikroskopischen Schnitten meist mehr oder weniger kollabiert. Die dem Lumen zugewandte Oberfläche der Kanalzellen hat eine sehr unregelmäßige Gestalt (s. Aufn. 10).

Bei Schnitten durch die „kurze Schleife" kann man sich nur wenig nach der Anordnung der Kanalabschnitte richten, da diese wegen der Windungen des Schleifenkanals sehr variabel ist. Man kann jedoch die Strukturen der Tubulusanschnitte mit den aus der „langen Schleife" bekannten Strukturen vergleichen und daraus Schlüsse auf die Zugehörigkeit der einzelnen Anschnitte ziehen. Als Beweis für die richtige Auffassung gelten dann Aufnahmen, auf denen man Übergänge zwischen verschiedenen Kanalabschnitten sehen kann.

In der „kleinen Schleife" muß man drei verschiedene Kanalabschnitte finden (Abb. 1, 2), zwei Schenkel des Schleifenkanals und den Bläschenkanal. Es geschieht jedoch häufig, daß man in einem Querschnitt durch die „Schleife" mehr als drei Kanalanschnitte sieht. Dies liegt sicher an den intensiven Aufwindungen des Schleifenkanals, die dazu führen, daß ein Kanalabschnitt mehrfach angeschnitten wird.

Aufn. 1 ist ein Querschnitt durch einen Schenkel der „kurzen Schleife" in der Nähe des freien Endes dieses Nephridienteiles. Es ist das Kanallumen 3 mal angeschnitten. Einer dieser Anschnitte besitzt auf der dem Lumen zugewandten Oberfläche einen Saum von Mikrovilli, ähnlich wie der Schleifenkanal in der „langen Schleife". Die apikale Oberfläche des zweiten Kanalabschnittes ist auffallend glatt. Nur gelegentlich sieht man einige kleine Mikrovilli.

Die dem Lumen zugewandte Oberfläche der Zellen des dritten Tubulusanschnittes hat unregelmäßige Zellausstülpungen. Ein Vergleich dieses Tubulusanschnittes mit Anschnitten des Bläschenkanals in der „langen Schleife“ zeigt weitgehende Übereinstimmung. Bei stärkerer Vergrößerung sind auch Übereinstimmungen in der Beschaffenheit des Plasmas, besonders in der Ausbildung der später zu beschreibenden Bläschenstrukturen zu beobachten (s. S. 231). Es ist anzunehmen, daß dieser Kanalabschnitt der Bläschenkanal ist.

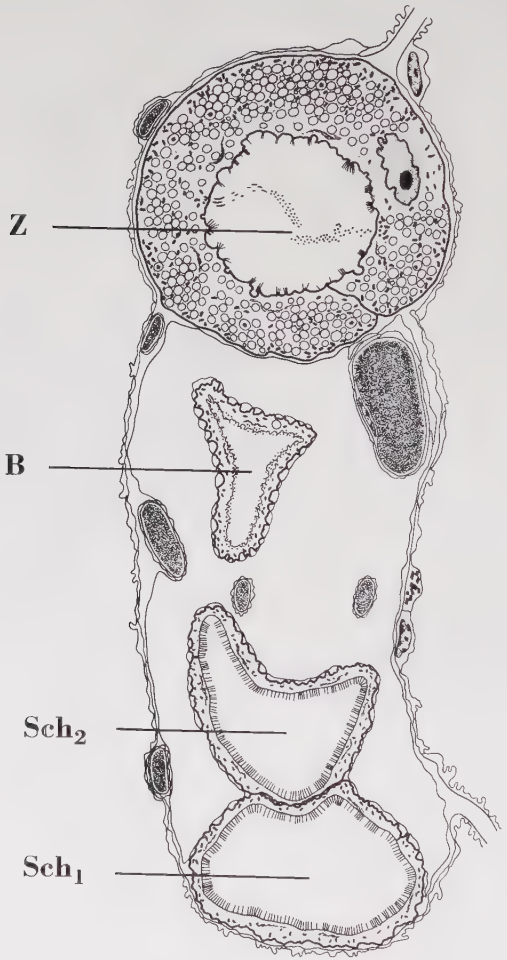


Abb. 4. Querschnitt durch die „große (lange, zweite) Schleife“ entsprechend Abb. 2, 5. Erklärung wie Abb. 3; B = Bläschenkanal. Nach elektronenmikroskopischen Schnitten.

Aus dieser Identifizierung folgt, daß im Gegensatz zur „langen Schleife" die beiden Schenkel des Schleifenkanals in der „kurzen Schleife" eine unterschiedliche Struktur aufweisen. Ein Schenkel besitzt wie in der „langen Schleife" einen Stäbchensaum, der zweite Schenkel hat eine fast glatte Oberfläche. Wie in der „langen Schleife" berühren sich beide Schenkel.

Zum Beweis der hier geschilderten Auffassung von der Zugehörigkeit der Anschnitte des Nephridialkanals in der „kurzen Schleife" wurde nach Übergängen des Trichterhalses in den Schleifenkanal, des Schleifenkanals in den Zilienkanal und des Bläschenkanals in den Stäbchenkanal gesucht.

Aufn. 5 demonstriert den Übergang des Schleifenkanals in den Zilienkanal. Wie man sieht, ist der Mikrovilli-tragende Teil der letzte Abschnitt des Schleifenkanals. Es ist leider nicht gelungen, auch den Übergang des Trichterhalses in den ersten Teil des Schleifenkanals zu beobachten. Auf Aufn. 5 sieht man noch den Trichterhals in enger Berührung mit dem zweiten Teil des Schleifenkanals. Einige Schnitte weiter liegt dicht neben dem rückläufigen Schenkel des Schleifenkanals ein Kanalabschnitt, der nicht mehr die Zilien des Trichterhalses besitzt und nur eine sehr geringe Zahl Mikrovilli zeigt.

Auf der Aufnahme 5 von Schnitten durch den Anfang der „kurzen Schleife" ist der Bläschenkanal nicht zu sehen. Wie man auf Abb. 1 erkennt, hat er den Gewebekomplex der „ersten Schleife" bereits vorher verlassen und ist in den Stäbchenkanal übergegangen. Der Übergang des Bläschen- in den Stäbchenkanal wurde selbst nicht gesehen, doch fand ich einen Schnitt, bei dem eine Bläschenkanalzelle in direkter Berührung mit einer Stäbchenkanalzelle stand, ohne daß die Lumina der beiden Kanalabschnitte ineinander übergingen. Bei dem Vergleich der Aufnahmen 10 und 11 fällt auf, daß der Bläschenkanal in den beiden Schenkeln der „kleinen Schleife" nicht das gleiche Aussehen hat. Im ersten Schenkel ist die apikale Oberfläche der Bläschenkanalzellen nicht nur wie im zweiten Schenkel der „kurzen Schleife" und in der „langen Schleife" zu unregelmäßigen Fortsätzen ausgezogen, sondern diese Fortsätze schließen außerdem noch je ein eigentümliches vakuolenartiges Gebilde ein, das nur durch einen dünnen plasmatischen Mantel vom Lumen abgegrenzt ist. Zuweilen sind diese Gebilde auch frei im Lumen des Kanals zu sehen (Aufn. 11). Die eben beschriebene

Struktur wurde nur im ersten Schenkel der „kurzen Schleife" gesehen und ist kurz vor dem Übergang in den Stäbchenkanal am deutlichsten.

Nach den geschilderten Beobachtungen kann die Beschreibung des Kanalverlaufs in den beiden ersten „Schleifen" nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen wie folgt zusammengefaßt werden.

Der Nephridialkanal beginnt am Trichter mit dem Trichterhals. Die Zellen dieses Kanalabschnittes tragen Zilien und zeigen einzeln stehende Mikrovilli. Kurz nach dem Eintritt in die „erste Schleife" hat der Kanal keine Zilien mehr und die Wandstärke nimmt ab. Der Kanal durchläuft die „kurze Schleife" und gelangt zur „langen Schleife". Am Ende der „kurzen Schleife" oder am Anfang der „langen Schleife" erscheinen auf der apikalen Zelloberfläche eine große Zahl von Mikrovilli, die einen Stäbchensaum bilden. Der Schleifenkanal durchläuft die „lange Schleife" bis annähernd zum freien Ende. Er bleibt hierbei immer am Rand des Gewebekomplexes. In der Nähe des freien Endes der „Schleife" biegt der Kanal um und durchzieht noch einmal, jetzt rückläufig, die „große Schleife", wobei er den entgegenkommenden Schenkel ständig berührt. Bis zur Hälfte des Weges durch die „lange Schleife" sind im Lumen Zilienanschnitte zu beobachten. Der rückläufige Schenkel des Schleifenkanals liegt, wie man auf Abb. 3, 4 erkennt, nicht wie sein entgegenkommender Schenkel am Rand der „Schleife", sondern mehr in der Mitte. Der Kanal geht dann erneut in die „kurze Schleife" über. Hier sind er und der entgegenkommende Schenkel umeinander gewunden. Auch in der kleinen Schleife bleiben der hin- und der rücklaufende Schenkel des Schleifenkanals miteinander in Berührung. Am freien Ende der „kurzen Schleife" sind auf einem kurzen Kanalstück Zilien ausgebildet. Am Anfang der „kurzen Schleife" geht der Schleifenkanal in den Zilienkanal über. Dies geschieht in unmittelbarer Nähe der Einmündungsstelle des Trichterhalses in die „erste Schleife". Der Zilienkanal führt wieder hinüber zur „langen Schleife", zieht aber nicht wie der Schleifenkanal durch die „kurze Schleife". In der „langen Schleife" liegt er zunächst am Rande des Gewebekomplexes und wechselt nachher zur Mitte über. Die Zellen des Zilienkanals sind leicht durch die große Zahl von Einschlüssen und durch den Besitz von Zilien von den Zellen anderer Kanalabschnitte zu unterscheiden. Schließlich geht der Zilienkanal kurz vor dem freien Ende der „Schleife" in die Ampulle über. Die

Ampullenzellen besitzen größere Einschlüsse als die Zilienkanalzellen. Auf der apikalen Oberfläche der Ampullenzellen befinden sich viele Bakterien. Am freien Ende der „langen Schleife" biegt die Ampulle um und läuft zurück nach ventral. Auf diesem Weg vertauscht sie etwa auf der Hälfte der „Schleife" ihre randständige Lage mit der des Zilienkanals. Nach diesem Wechsel hat der Kanal ein ganz anderes Aussehen. Die Einschlüsse im Plasma und die Bakterien im Lumen sind verschwunden. Die apikale Oberfläche der Zellen macht einen zerrissenen, unregelmäßigen Eindruck. Wegen der im Plasma in großer Zahl auftretenden, sehr charakteristischen Bläschenstrukturen wurde dieser Kanalabschnitt von mir Bläschenkanal genannt. Der Bläschenkanal geht in die „kurze Schleife" über. Hier läuft er getrennt von den beiden Schenkeln des Schleifenkanals und scheint sich nicht an deren Windungen zu beteiligen. Im ersten Schenkel der „kurzen Schleife" enthalten apikale Zellausläufer der Kanalzellen eigentümliche Vakuolen, die auch frei im Kanallumen erscheinen. Ein Stück vor der Einmündungsstelle des Schleifenkanals in den Zilienkanal geht der Bläschenkanal in den Stäbchenkanal über.

Die Orientierung innerhalb der „dritten Schleife", die den Stäbchenkanal und die Blase umfaßt, ist einfacher, da in einem Querschnitt immer nur ein Kanalabschnitt getroffen wird. Die zu untersuchende Region kann man sich bereits vor der Fixierung bei der Präparation heraussuchen. Die Strukturen werden für jeden Kanalabschnitt einzeln im Kapitel 2, 3 behandelt.

2. 2 Intra- oder interzelluläres Kanallumen

Deduktiv kann man sich zwei verschiedene Arten der Entstehung eines Kanals ableiten, dessen Lumen im Querschnitt von einer einzigen Zelle umgeben ist. Das Lumen kann in der Zelle entstehen durch den Zusammenschluß intrazellulärer Vakuolen. Auf Querschnitten müßte die Kanalzelle das Lumen als geschlossener Ring umgeben. Die zweite Möglichkeit wäre, daß die Kanalzellen zunächst flache Gebilde sind, die sich zu einer Röhre zusammenkrümmen und deren freie Enden durch eine „Lötstelle" verbunden werden. In diesem Fall wäre der das Lumen umgebende Zellring von einer Zellgrenze (Lötstelle) durchzogen.

Bis auf V a n d e b r o e k (1934) sind alle Bearbeiter der Auffassung, daß der gesamte Nephridialkanal mit Ausnahmen des

Trichterhalses und der Endblase intrazellulär sei und aus intrazellulären Vakuolen entstünde. Nur V a n d e b r o e k (1934) nimmt eine interzelluläre Entstehung an.

Auf meinen elektronenmikroskopischen Querschnittenaufnahmen sieht man relativ häufig eine Zellgrenze, die die Kanalwand durchzieht. Dies spricht für ein interzelluläres Lumen. Wie auf Abb. 5 gezeigt, könnten Zellgrenzen auf schrägen Querschnitten allerdings auch bei intrazellulärem Lumen auftreten. Da ich nur selten im Elektronenmikroskop Kanalquerschnitte vollständig überblicken konnte, habe ich die Frage des intra- oder interzellulären Lumens nicht klären können. Doch scheint mir das häufige Auftreten einer Grenze im Zellring für die zweite Auffassung zu sprechen.

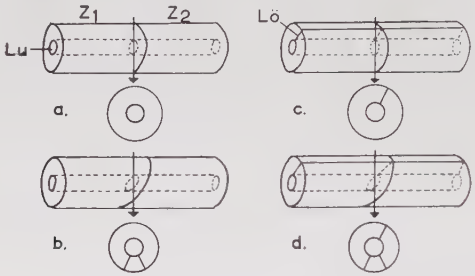


Abb. 5. Schema zur Diskussion der Frage eines intra- oder interzellulären Kanallumens. Die Querschnittsbilder a und b würden auf ein intra- die Querschnitte c und d auf ein interzelluläres Lumen hindeuten. Näheres s. Text. Z_1 und Z_2 = aufeinander folgende Zellen des Nephridialkanals; Lu = Kanallumen; Lö = „Lötstelle".

2. 3 Die Feinstruktur der einzelnen Kanalabschnitte

Im folgenden wird die Feinstruktur der einzelnen Abschnitte des Nephridialkanals geschildert. Zu Beginn der einzelnen Kapitel werden die Befunde der auf S. 191 ff. erwähnten Autoren in Kleindruck zusammenfassend referiert.

a) Der Trichterhals

Der Trichterhals ist der Abschnitt des Nephridialkanals zwischen dem Trichter und der „ersten (kleinen, kurzen) Schleife" im folgenden Segment des Tieres. Das Lumen des Trichterhalses wird im Querschnitt von zwei oder mehr Zellen umschlossen. Der Kanal ist von Interzellularsubstanz umgeben, die zum Cölom hin von Cölomepithel begrenzt ist. Die Zilien des Trichters setzten sich im Kanal in zwei spiralig gewundenen Reihen fort.

Der von den lichtmikroskopischen Bearbeitern geschilderte Aufbau des Trichterhalses ist im Elektronenmikroskop besonders deutlich zu sehen (Aufn. 2).

Die basale Zellwand grenzt an eine Schicht Interzellularsubstanz (Int). Diese sendet an vielen Stellen Ausläufer zwischen die Kanalzellen und in die Zellen hinein. Quergeschnittene Ausläufer dieser Schicht Interzellularsubstanz wirken wie Einschlüsse des Plasmas. Man kann diese Substanz jedoch in allen Fällen von echten Plasmaeinschlüssen unterscheiden, da sie charakteristische fibrilläre Strukturen enthält. Über diese Interzellularsubstanz wird auf S. 248 ff. ausführlicher berichtet.

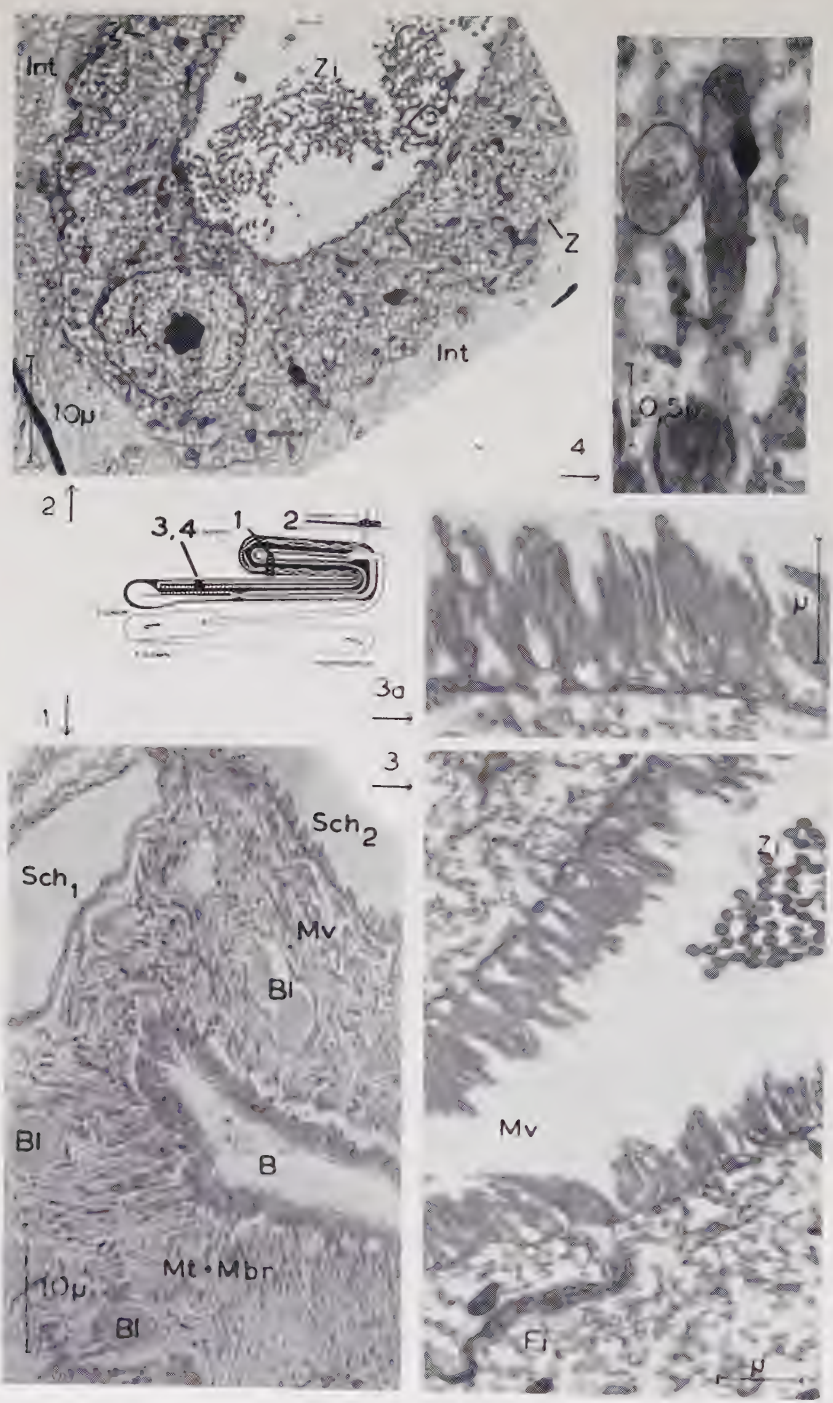
Nicht selten, besonders in den Teilen hinter dem Dissepiment, sieht man Amöboidzellen in engem Kontakt mit der basalen Oberfläche der Trichterhalszellen (Aufn. 5).

Die dem Kanallumen zugewandte Zelloberfläche ist vor allem durch zwei Strukturen ausgezeichnet, durch Zilien und kleine Mikrovilli.

Die Mikrovilli sind ca 600—800 Å dick und 3000—4000 Å (= 0,3—0,4 μ) lang. Wie später geschildert wird, unterscheiden sie sich in der Größe stark von den anderen Mikrovilli in Nephridium, die meist über 1 μ (= 10 000 Å) lang sind. Die Mikrovilli im Trichterhals treten verstreut auf der Zelloberfläche auf und bilden nie Säume. In vielen dieser stäbchenförmigen Gebilde sieht man eine Innenstruktur. Sie haben einen undeutlichen Achsenstab, der sich bis 0,7 μ tief in das apikale Zellplasma hinein fortsetzt. Einzelheiten über den Feinbau der Zilien und ihre „Wurzel"-Strukturen werden auf S. 256 ff. zusammengestellt.

Kerne sind in den Trichterhalszellen im Gegensatz zu den Zellen anderer Kanalabschnitte häufig zu beobachten. Sie besitzen einen deutlichen Nukleolus. Im Plasma beobachtet man typische Zellbestandteile, wie Mitochondrien und Golgiapparate. Die Mitochondrien sind meist länglich, um 0,3 μ dick und bis über 1 μ lang. Bei mit Osmiumsäure fixierten Objekten haben sie eine so dunkle Grundsubstanz, daß Innenstrukturen selten zu erkennen sind. In besonders großer Zahl findet man Mitochondrien in der Nähe des Wurzelbereiches der Zilien.

Außer diesen in fast allen Zellen auftretenden Strukturen sieht man grau wirkende runde Einschlußkörper mit einem Durchmesser von gut 0,7 μ. Sie sind nicht scharf gegen das Zellplasma abgegrenzt.


Int
Z1
Z
K
Int
10µ
4
0,3µ
2
3,4
1
2
3a
µ
1
3
Sch2
Sch1
Mv
Bl
Bl
B
Mt•Mbr
10µ
Bl
Z1
Mv
Fl
µ

b) Der Schleifenkanal

Der Schleifenkanal ist der längste Abschnitt des Nephridiums. Seine Wand ist im Vergleich zum Durchmesser des Lumens auffallend dünn. Die Kanalzellen sind sehr lange röhrenförmige Zellen, in denen man nur selten einen Kern anschneidet. K. C. Schneider (1902) beschreibt Verzweigungen des Lumens. Das Plasma der Tubuluszellen ist sehr durchsichtig und zeigt außer den später zu beschreibenden fibrillären Elementen keine besonderen Differenzierungen. An zwei Stellen besitzt der Kanalabschnitt Zilien.

Die Schleifenkanalzellen am Anfang der „kurzen Schleife" machen einen relativ einfachen Eindruck. Die basale Zelloberfläche hat wenige Ausbuchtungen. Die dem Lumen zugewandte Oberfläche erscheint wellig und trägt wenige stäbchenförmige Ausstülpungen

Aufn. 1. Querschnitt durch den zweiten Schenkel der „kurzen (kleinen, ersten) Schleife". Angeschnitten sind der erste (Sch_1) und der zweite (Sch_2) Schenkel des Schleifenkanals und der Bläschenkanal (B). Die apikale Oberfläche des ersten Schenkels des Schleifenkanals trägt nur sehr wenige einzeln stehende Mikrovilli, die des zweiten Schenkels einen Bürstensaum aus einer großen Zahl Mikrovilli (Mv). Die apikale Oberfläche der Bläschenkanalzelle zeigt eine Reihe von Zellausläufern unregelmäßiger Gestalt. Zwischen den Kanalanschnitten sieht man die mit Mitochondrien und Membrannex (Mt + Mbr) angefüllten Mantelzellen und Anschnitte einiger Blutkapillaren (Bl). Die Membranen in der Umgebung des Bläschenkanals stehen vorzugsweise senkrecht zur Längsachse des Kanals. Fixierung 1, Einbettung 1*.

Aufn. 2. Querschnitt durch den Trichterhals. Es ist eine Kanalzelle ganz, die zweite nur zum Teil sichtbar. Der Kern (K) der Kanalzelle 1 besitzt einen deutlichen Nukleolus. Im Kanallumen sind Zilien (Zi) angeschnitten. Z = Zellgrenzen. Außen sind die Kanalzellen von einer kontinuierlichen Schicht Interzellularsubstanz (Int) umgeben. Fixierung 1, Einbettung 1.

Aufn. 3. Schnitt durch den zweiten Schenkel des Schleifenkanals. Die apikale Zelloberfläche trägt einen Saum stäbchenförmiger Mikrovilli (Mv). Im Plasma sieht man Bündel Elementarfibrillen (Fi). Im Lumen sind Zilien angeschnitten (Zi). Fixierung 1, Einbettung 1.

Aufn. 3 a. Ausschnittsvergrößerung des Stäbchensaumes aus Aufn. 3. Man erkennt, daß die Mikrovilli in Büscheln angeordnet sind. Unterhalb des Mikrovillisaumes befindet sich ein elektronenmikroskopisch dunkler Streifen, der nur an den Stellen unterbrochen ist, an denen Mikrovilli-Büschel entspringen.

Aufn. 4. Ausschnitt aus dem Plasma einer Schleifenkanalzelle. Neben einem länglichen Mitochondrium mit der gewohnten Innenstruktur aus Lamellen (Cristae) befindet sich ein im Schnitt rundliches Mitochondrium mit tubulärer Innenstruktur. Fixierung 3, Einbettung 2.

---

* Für die Angaben der Fixierung und Einbettung wurden Kennziffern benutzt.
Es bedeutet: Fixierung 1: Osmiumsäurelösung nach Sjöstrand (1955)
Fixierung 2: Osmiumsäurelösung nach Palade (1952)
Fixierung 3: Kaliumpermanganatlösung nach Luft (1956)
Einbettung 1: Methacrylatgemisch
Einbettung 2: „Plexigum"

des Apikalplasmas (Mikrovilli). Die Länge dieser Mikrovilli ist schwer anzugeben, da einzeln stehende Mikrovilli im Gegensatz zu denen in einem Stäubchensaum häufig umknicken und dann auf Schnitten meist quer getroffen werden. Der Durchmesser beträgt ca 700 Å und gleicht damit dem der Mikrovilli im zweiten Teil des Schleifenkanals. Kurz vor dem Übergang in die „lange Schleife" oder erst in der „langen Schleife" ändert sich die Struktur der Tubuluszellen. Als besonders auffälliges Merkmal erscheint jetzt auf der apikalen Zelloberfläche eine große Zahl von Mikrovilli, die einen Stäbchensaum bilden.

Die Dicke der Kanalwandung schwankt in der Gesamtzahl der untersuchten Nephridien sehr. Es wurden Werte zwischen 12 und 0,4 μ gemessen. Hierbei unterscheiden sich die Wandstärken des hin- und die des rücklaufenden Schenkels nicht wesentlich. Auch bei ein und derselben Wandzelle schwankt die Dicke, so wurden auf einem Kanalquerschnitt Werte zwischen 3 und 0,6 μ gemessen. Der oben genannte extreme Wert von 12 μ könnte eine Täuschung auf Grund eines Schrägschnittes sein. Der niedrige Wert von 0,4 μ wurde an einem mit Permanganat fixierten Objekt gemessen, bei dem 1,2 % Kochsalz dem Fixierungsmittel beigegeben war, er könnte auf Schrumpfungen des Gewebes zurückzuführen sein.

Die Länge der Kanalzellen kann ich nicht angeben, da nur eine geringe Zahl von Längsschnitten untersucht wurde. Man trifft äußerst selten Kerne an, so daß anzunehmen ist, daß die einzelne Zelle sehr lang ist.

Der zum freien Ende der „langen Schleife" führende erste Schenkel läuft am Rande der „Schleife", der rückläufige zweite Schenkel mehr in der Mitte des Gewebekomplexes (Abb. 1, 2, 3, 4, Sch_1 und Sch_2). Beide Schenkel liegen auf Querschnitten dicht nebeneinander und berühren sich an mehreren Stellen. Zwischen diesen Berührungsstellen erkennt man in Schnitt „Inseln" Interzellularsubstanz.

Der erste Schenkel (Sch_1) ist zur Cölomhöhle hin von einer kontinuierlichen Schicht Interzellularsubstanz umgeben, die wiederum von Cölomepithel begrenzt wird. In zwei schmalen Zonen grenzt er an Hüllzellen (s. Abb. 3). Ähnlich, wie zwischen den beiden Schenkeln, gibt es hier keine breite Berührungsfläche, sondern nur eine Berührung mit einzelnen Zellausläufern, zwischen denen sich im Schnitt „Inseln" Interzellularsubstanz befinden.

Der zweite Schenkel (Sch_2) ist zum größten Teil von Hüllzellen umgeben. Wie beim ersten Schenkel beschrieben, berühren sich auch hier die Kanalzellen und die Hüllzellen mit schmalen Ausläufern. Zwischen diesen Kontaktstellen befinden sich im Schnitt wieder „Inseln" Interzellularsubstanz. Es ist zu vermuten, daß diese „Inseln" Interzellularsubstanz nicht isoliert zwischen den Zellen auftreten, sondern, daß sie vielleicht gitterartig zusammenhängen. Diese Ansicht ließe sich nur an lückenlosen Serienschnitten beweisen, die mit der hier benutzten Methodik nicht erreicht wurden.

Auf einigen Aufnahmen eines Nephridiums wurden Doppelmembranen beobachtet, die von der basalen Zelloberfläche her in das Plasma der Schleifenkanalzellen eindringen. Da der Zwischenraum der beiden Membranen dieser Doppelmembran mit dem extrazellulären Raum in Verbindung steht, muß man diese Strukturen wohl als Einstülpungen der basalen Zellmembran auffassen. Diese Membraneinstülpungen sind beim Schleifenkanal sehr selten. An anderen Stellen im Nephridialkanal sind sie immer in großer Zahl vorhanden. Im Zusammenhang mit den dort auftretenden Strukturen werden sie auf S. 226 und 233 f. ausführlicher behandelt.

Die dem Lumen zugewandte Zelloberfläche ist zu einer großen Zahl stäbchenförmiger Mikrovilli ausgestülpt. Der Abstand dieser Mikrovilli wechselt mit der Größe des Tubuluslumens. Nach der Fixierung mit Permanganat ist das Tubuluslumen häufig sehr eng und die Mikrovilli stehen dicht gedrängt. Dies ist besonders deutlich, wenn die Wände des Kanals sich an einigen Stellen einfalten, und dadurch im Schnitt „Ecken" erscheinen. In den „Ecken" schneidet man die Mikrovilli auf Querschnitten durch den Kanal immer quer und nicht wie an anderen Stellen des gleichen Kanalquerschnittes längs an. Vermutlich haben die Mikrovilli in den „Ecken" nicht genügend Platz, um sich mit ihrer Längsrichtung in der Schnittebene anzuordnen. sondern klappen in der Längsrichtung des Kanals um. An einigen Stellen erhält man allerdings auch Querschnitte von Mikrovilli, an Orten, bei denen man annehmen sollte, daß genügend Platz für eine normale Ausrichtung der Mikrovilli vohanden ist.

Auf den meisten Aufnahmen stehen die Mikrovilli in Gruppen auf der Oberfläche der Zellen. Zwischen den Mikrovilligruppen sind verschieden große Zwischenräume. Auf einigen Bildern sieht man, daß diese Gruppenbildung nicht nur durch das enge Aneinanderlegen der Spitzen von Mikrovilli zustande kommt, sondern daß die

Mikrovilli schon in Büscheln aus der Zelloberfläche entspringen (Aufn. 3, 3 a). Außerdem besteht aber auch ein ausgesprochener Zusammenhalt der Mikrovilli, der den Eindruck erweckt, als seien die stäbchenförmigen Gebilde untereinander verklebt. Es ist nicht zu entscheiden, ob dies durch eine Substanz zwischen den Zellausstülpungen hervorgerufen wird. F a w c e t t (1958) beschreibt eine Substanz zwischen den Mikrovilli des Säugernephrons, die vermutlich aus Mucopolysacchariden besteht.

Die einzelne stäbchenförmige Zellausstülpung hat einen Durchmesser von etwa 0,07 μ (= 700 Å) und eine Länge von 1 bis 1,3 μ. Der Innenraum des Mikrovillus ist mit gleichmäßigem Material ausgefüllt, das nach der Fixierung mit Osmiumsäure dunkler als das akipale Zellplasma erscheint.

Bei mit Osmiumsäure fixiertem Material fällt im Plasma unter den Mikrovilli ein parallel zur Zelloberfläche verlaufender dunkler ca. 600—700 Å breiter Saum auf (Aufn. 3 a). An Stellen, an denen Mikrovilli entspringen, ist dieser Saum unterbrochen. Nach Fixierung mit Permanganat ist mir eine ähnliche Struktur nie aufgefallen. Der beschriebene dunkle Saum ist vielleicht für die lichtmikroskopische Beobachtung von „Basalkörpern" der „Härchen" (Mikrovilli) verantwortlich (s. M a z i a r s k i 1903).

Im Hauptstück des Wirbeltiernephrons (R h o d i n 1954, 1958) und im Malpighischen Gefäß von *Gryllus domesticus* L. (B e r k a l o f f 1958/60) wurden zwischen den Mikrovilli Einstülpungen der apikalen Zelloberfläche in die Zelle hinein beschrieben, die im apikalen Zellplasma sackförmige Hohlräume bilden. Diese Gebilde habe ich im Schleifenkanal des Nephridiums nicht beobachtet.

An zwei Stellen gibt es im rückläufigen Schenkel des Schleifenkanals Zilien. Sie kommen zusammen mit Mikrovilli vor.

Verzweigungen des Lumens, wie sie K. C. S c h n e i d e r (1902) beobachtete, wurden von mir nicht gesehen.

Kerne wurden, wie bereits erwähnt, nur selten angeschnitten. Sie haben eine unregelmäßige Form (Abb. 3) und besitzen einen deutlichen Nukleolus. Ein vermutlich in größtem Durchmesser getroffener Kern maß $8 \times 4{,}5$ μ. Da zu wenig Aufnahmen vorliegen, läßt sich über feinere Strukturen nichts aussagen.

Im Plasma fallen vor allem vier Strukturen auf: Mitochondrien, einige Granula, kleine Bläschen oder Vakuolen und fibrilläre Strukturen.

Die Mitochondien sind meist klein (unter 1 μ lang) und oval. Bei mit Permanganat fixierten Präparaten ist die charakteristische Innenstruktur gut zu erkennen. Diese besteht aus Doppelmembranen („Cristae mitochondriales"), die längs oder quer zur Längsrichtung des Mitochondriums den Innenraum durchziehen. In einer Zelle wurde neben einem Mitochondrium mit „Cristae" eines mit tubulärer Innenstruktur beobachtet (Aufn. 4). Mitochondrien mit tubulärer Innenstruktur werden gewöhnlich nur bei „Protozoen" beschrieben. Belt und Pease (1956) sahen jedoch Mitochondrien mit Tubuli und solche mit „Cristae" nebeneinander in der Nebenniere der Maus.

Neben den Mitochondrien beobachtet man in den Schleifenkanalzellen wieder die grau wirkenden Einschlüsse, die bereits im Trichterhals beschrieben wurden.

Besonders im Plasma der mit Permanganat fixierten Objekte findet man eine große Zahl kleiner Vakuolen und Bläschen mit einem Durchmesser von 600—1000 Å. Sie sind in der Nähe des Kanallumens etwas häufiger als in den basalen Zellbereichen.

Bei fast allen mit Osmiumsäure fixierten Nephridien sieht man in den Tubuluszellen mit Ausnahme der Trichterhalszellen und der Zellen des „inneren Epithels" der Blase fibrilläre Strukturen. Diese sind besonders in der Nähe des Lumens häufig. Eine bevorzugte Richtung ist mir nicht aufgefallen. Meist durchziehen diese Strukturen das Plasma in wellenförmigen Linien (Aufn. 3). Diese „Fibrillen" wurden bereits lichtmikroskopisch beobachtet (Maziarski 1903) und „Widerstandsfibrillen" genannt, da man annahm, sie hätten das Tubuluslumen vor dem Kollabieren zu schützen (s. S. 283 f).

Im elektronenmikroskopischen Bild bestehen „Fibrillen" in den Schleifenkanalzellen aus einer großen Zahl feiner Fasern mit einem Durchmesser von etwa 100 Å.

Frey-Wyssling (1955) schlägt eine Benennung fibrillärer Strukturen nach ihren Durchmessern vor:

amikroskopisch	Faden- bzw. Kettenmolekeln	10 Å
	Filamente	
submikroskopisch	Elementar- oder Protofibrillen	100 Å
	Mikro- oder Subfibrillen	1 000 Å
mikroskopisch	Fibrillen	10 000 Å (= 1 μ)
	Fasern	100 000 Å (= 10 μ)

Die Einordnung der „Filamente" geht aus dem Zitat nicht eindeutig hervor. In der elektronenmikroskopischen Literatur ist der Ausdruck „Filament"

für die unterste elektronenmikroskopisch sichtbare fibrilläre Einheit von Muskeln üblich. Muskelfilamente haben einen Durchmesser von einigen hundert Ångström-Einheiten (s. Bourne 1960). Demnach bezieht sich in der oben angegebenen Einteilung der Begriff „Filament" auf den Größenbereich der „Elementar-" oder „Profibrillen".

Nach der Terminologie von Frey-Wyssling (1955) sind die fibrillären Strukturen in den Tubuluszellen des Nephridiums als „Elementar- oder Protofibrillen" zu bezeichnen.

Ein Zusammenhang mit anderen Strukturen, wie den später zu schildernden „Wurzelfasern" von Zilien (s. S. 256 ff.), wurde nicht festgestellt.

Bei mit Permanganat fixierten Nephridien beobachtet man keine Bündel von Elementarfibillen, sieht jedoch stattdessen häufig Stränge eines dunkleren Materials als das übrige Plasma. Wie bereits im Kapitel über die Charakteristika der verschiedenen benutzten Fixierungsmittel erwähnt, werden durch Fixierung mit Permanganat fibrilläre Elemente, wie Muskelfilamente, Elementarfibrillen in Zilien und ähnliches, schlecht oder gar nicht dargestellt (s. S. 198). Auf Grund der Gestalt der dunkleren Bezirke erscheint es mir sehr wahrscheinlich, daß diese den oben beschriebenen Bündeln von Elementarfibrillen entsprechen.

c) Der Zilienkanal

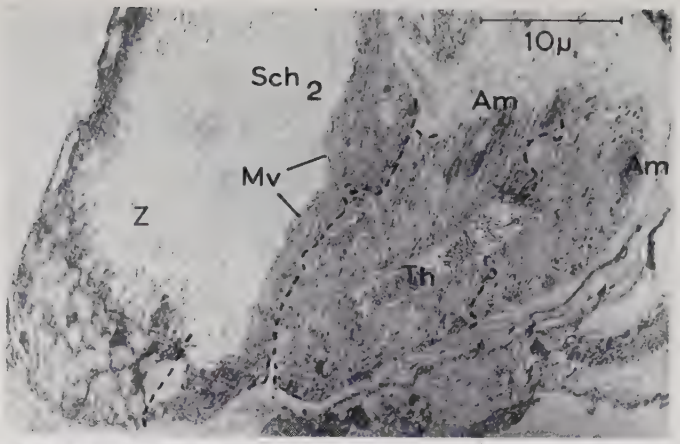
Der Zilienkanal hat am Anfang einen weit größeren Durchmesser als der Schleifenkanal. Der Durchmesser nimmt in Richtung zur Ampulle jedoch gleichmäßig ab. Schon makroskopisch ist der Zilienkanal durch seine auffallend braungelbliche Farbe erkennbar. Diese Farbe entsteht durch die Anwesenheit einer großen Zahl von runden, dunklen Einschlüssen. Zuweilen ist der Tubulus hell und man beobachtet anstelle der braunen Granula vakuolenartige Gebilde. Die größte Zahl der Granula findet sich in der Nähe des Anfanges vom Zilienkanal. Zur Ampulle hin nehmen sie schnell ab. Meist gehen sie nicht über die Hälfte der Strecke dorthin hinaus. Der ganze Kanalabschnitt ist bewimpert. Maziarski (1903) beschreibt kleine Kanälchen, die von außen in die Kanalzellen eindringen und in der Zelle ein Netz bilden. Sie sollen Vakuolen abgeben.

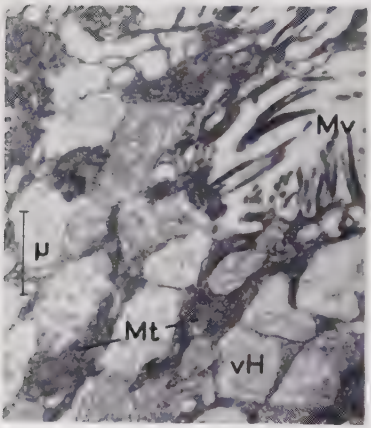
Im elektronenmikroskopischen Bild ist die Dicke der Wand des Zilienkanals ebenfalls nicht konstant. Kurz hinter dem Übergang des Schleifenkanals in den Zilienkanal wurden Werte bis zu 15 μ, in der Nähe der Ampulle um 2 μ gemessen. Auch bei einem Querschnitt mißt man nicht an allen Stellen den gleichen Wert. Man hat häufig den Eindruck, daß das Lumen auf einem Querschnitt nicht ganz symmetrisch von der Tubuluszelle umgeben wird, die Wandung erscheint auf einer Seite dünner als auf der anderen. In vielen Fällen ist das Lumen sehr klein oder sogar vollständig geschlossen.

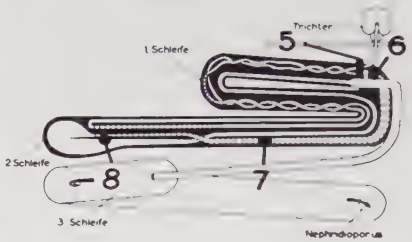
Bis zur Hälfte der „langen Schleife" verläuft der Zilienkanal am Rande des Gewebes, das die „lange Schleife" bildet (Abb. 4, Z, Aufn. 7) und wechselt dann in die Mitte über (Abb. 3, Z). Vor diesem Wechsel sind die Kanalzellen von einer kontinuierlichen Schicht Interzellularsubstanz umgeben. Außen grenzt diese Schicht zum größten Teil an Cölomepithel. Nur zum benachbarten Bläschenkanal hin liegt die Schicht Interzellularsubstanz zwischen Zilienkanalzellen und Hüllzellen. Hinter dem Wechsel umhüllen die Hüllzellen den Zilienkanal vollständig, die Schicht Interzellularsubstanz ist dann diskontinuierlich, wie zwischen den Schleifenkanalzellen und Hüllzellen. Sie wird von Zellausläufern der Kanalzellen, die mit Ausläufern der Hüllzellen in Verbindung stehen, an mehreren Stellen unterbrochen.

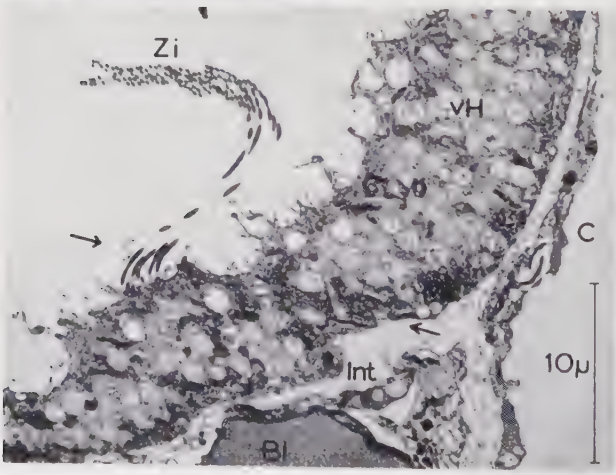
Nach Fixierung mit Osmiumsäure ist die Wand des Zilienkanals in den meisten Fällen auf einer größeren Strecke vor der Einmündung in die Ampulle von den Hüllzellen abgelöst. Zwischen der basalen Oberfläche der Tubuluszelle und der Wand der Hüllzelle befinden sich dann elektronenoptisch leere Räume mit einem Durchmesser bis zu 17 μ. Die Größe dieser interzellulären Räume verändert sich mit der Salzkonzentration des Fixierungsmittels. Die stärkste Ablösung wurde beobachtet, als versehentlich eine Osmiumsäurelösung benutzt worden war, bei der alle Salze eine doppelt so hohe Konzentration hatten als normal. Nach Fixierung mit Permanganat, bei der gewöhnlich Quellungen der Mitochondrien und vielleicht auch anderer Zellbestandteile beobachtet werden (s. S. 198), sind die beschriebenen Ablösungen nicht zu sehen. Die Abhängigkeit der Größe der interzellulären Räume von der benutzten Salzkonzentration scheint mir dafür zu sprechen, daß die Räume zwischen Zilienkanal- und Hüllzellen durch Schrumpfungen hervorgerufene Artefakte sind. Die von Maziarski (1903) beschriebenen kleinen Kanälchen, die von außen in die Zilienkanalzelle eindringen und sich in den Zellen verzweigen sollen, wurden von mir nicht beobachtet.

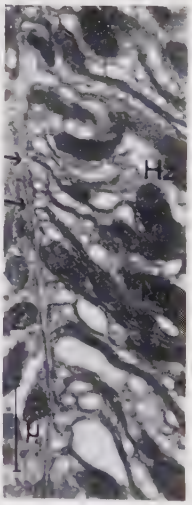
Die dem Kanallumen zugewandte Oberfläche der Zilienkanalzellen ist unregelmäßig in Zipfeln ausgezogen. Dazwischen sieht man taschenförmige Vertiefungen in die Zelle hinein (Aufn. 6, 7). Über die ganze apikale Zelloberfläche verstreut findet man in lockerer und unregelmäßiger Anordnung Mikrovilli von ca 1 μ Länge und ca 0,07 μ (= 700 Å) Durchmesser. Es sind einfache, stäbchenförmige Zellausstülpungen, deren Innenraum sich nicht von Plasma


10µ
5
Sch 2
Am
Mv
Am
Z
Th


Mv
µ
Mt
vH
6


Trichter
1. Schleife
5
6
2. Schleife
8
7
3. Schleife
Nephridioporus


7
Zi
vH
C
10µ
Int
Bl


8
Hz
µ

unterscheidet. Wenn das Lumen kollabiert ist, werden die Mikrovilli zu sehr dichter und geordneter Packung zusammengepreßt. In der Nähe der Ampulle sind die Mikrovilli seltener und scheinen etwas dicker zu sein. Die Länge kann nicht angegeben werden, da man fast ausschließlich Querschnitte bekommt.

An einander gegenüberliegenden Stellen der Zelle entspringen zwei Zilienreihen. Über die Feinstruktur der Zilien und ihrer Wurzelregion wird auf S. 256 ff. im Zusammenhang mit Zilien anderer Kanalabschnitte berichtet.

Wie in den anderen Kanalabschnitten mit Ausnahme des Trichterhalses werden auch im Zilienkanal selten Kerne beobachtet. Ein Schnitt durch einen Kern in der Nähe des Beginns vom Zilienkanal maß ca $10 \times 4\ \mu$, ein kurz vor der Ampulle angeschnittener Kern war flacher, er maß ca $12 \times 1\ \mu$. Ein Nukleolus war bei beiden Anschnitten nicht zu erkennen, es ist jedoch gut möglich, daß er beim Schnitt nicht getroffen wurde.

Die auffälligsten Strukturen in der Zelle sind rundliche und ovale Einschlußkörper, deren Größe zwischen $2{,}5 \times 1\ \mu$ und $0{,}7 \times 0{,}4\ \mu$ schwankt. In einem Fall wurde ein Durchmesser von $5\ \mu$ gemessen. Die größten und zugleich die größte Zahl findet man am Anfang des Zilienkanals. Kurz vor der Einmündung in die Ampulle

Aufn. 5. Schnitt durch den Anfang der „kurzen (kleinen, ersten) Schleife". Angeschnitten ist der Trichterhals (Th) und die Übergangsstelle des Schleifenkanals (Sch_2) in den Zilienkanal (Z). Mv = Mikrovilli; Am = Amöbocyten. Zur besseren Übersicht sind die Zellgrenzen durch Strichelung hervorgehoben. Fixierung 2, Einbettung 1.

Aufn. 6. Ausschnitt aus dem apikalen Plasma einer Zelle am Anfang des Zilienkanals. Das Zellinnere ist fast vollständig ausgefüllt von dicht gedrängt angeordneten vakuolenartigen Hohlkörpern (vH), zwischen denen sich Gruppen von Mitochondrien befinden (Mt). Die apikale Zelloberfläche ist stark zerklüftet und trägt eine größere Zahl Mikrovilli (Mv), die nicht in einem Stäbchensaum angeordnet sind. Fixierung 2, Einbettung 1.

Aufn. 7. Teil eines Querschnittes durch den Zilienkanal. Eine Zellgrenze durchläuft die Kanalwand (zwischen den beiden Pfeilen). Die vakuolenartigen Hohlkörper im Plasma der Zilienkanalzelle sind zum größten Teil mit granulärem Material angefüllt, bei einigen erscheint dies in der Mitte des Hohlkörpers zusammengezogen. Die Hohlkörper in der Nähe des Kanallumens erscheinen leer. Im Lumen schlägt eine Wimperflamme (Zi). Mt = Ansammlung von Mitochondrien; Int = Interzellularsubstanz; C = Cölomepithel; Bl = Blutgefäß. Dieser Zilienkanal ist einem Nephridium entnommen, bei dem im Bläschenkanal und in der Ampulle Bakterien auftraten (s. S. 239 ff.). Fixierung 2, Einbettung 1.

Aufn. 8. Die der Zilienkanalzelle (Z) zugewandte Oberfläche der Hüllzellen zeigt eine Reihe von Einfaltungen der Zellmembran in die Zelle hinein (z. B. Pfeile). Zwischen den hierdurch gebildeten Doppelmembranen liegen Mitochondrien (Mt). Fixierung 1, Einbettung 1.

sind keine Einschlußkörper mehr zu sehen. Meist gehen sie nicht viel über die Stelle hinaus, an der der Zilienkanal und die Ampulle (bzw. der Bläschenkanal) ihre Plätze innerhalb der Schleife vertauschen (s. S. 200 f.). Besonders eindrucksvoll ist die Messe an Einschlußkörpern kurz hinter dem Übergang des Schleifenkanals in den Zilienkanal (Aufn. 6). Das Plasma der Zelle erscheint bis auf einige schmale Bezirke vollständig verdrängt. In Richtung zur Ampulle sind verschieden große Gebiete der Zellen frei von Einschlüssen. Besonders in einem apikalen Saum um das Kanallumen herum sieht man diese Gebilde dann nur sehr selten.

Jeder Einschlußkörper wird von einer 70—100 Å dicken Membran umgeben. Innen findet sich meist feinkörniges Material. Es ist entweder gleichmäßig über den ganzen Innenraum verteilt oder erscheint auf kleinen Bezirken zusammengezogen. Dies Gebiet ist dann weit dunkler als der umgebende „Hof" (Aufn. 7). Seltener ist der ganze Innenraum mit dunklem Material gefüllt.

Wie an anderer Stelle geschildert wird (s. S. 239), kann in bestimmten Fällen der Innenraum dieser Einschlußkörper mit dem Kanallumen in Verbindung treten. In diesem Fall ähneln sie Vakuolen. Im Folgenden werden diese Einschlußkörper deshalb „vakuolenartige Hohlkörper" genannt.

Zwischen den vakuolenartigen Hohlkörpern liegen zahlreiche Mitochondrien. Man sieht diese in den basalen Zellbereichen meist in größerer Zahl als in der Nähe des Lumens. In der Größe ähneln sie den Mitochondrien des Schleifenkanals. Soweit erkennbar, besitzen sie „Cristae".

Neben diesen sehr typischen Zellbestandteilen sieht man seltener graue Einschlüsse, die innen häufig einen hellen Fleck haben und gegen das umgebende Plasma nicht scharf abgegrenzt sind. Bis auf den hellen Innenraum ähneln sie den grauen Granula, die bereits im Zusammenhang mit den Strukturen der Trichterhalszellen beschrieben wurden.

Wie im Schleifenkanal werden bei vielen Schnitten Stränge aus Elementarfibrillen angeschnitten.

Außerdem findet man gelegentlich Golgiapparate und eine Vielzahl kleiner Bläschen.

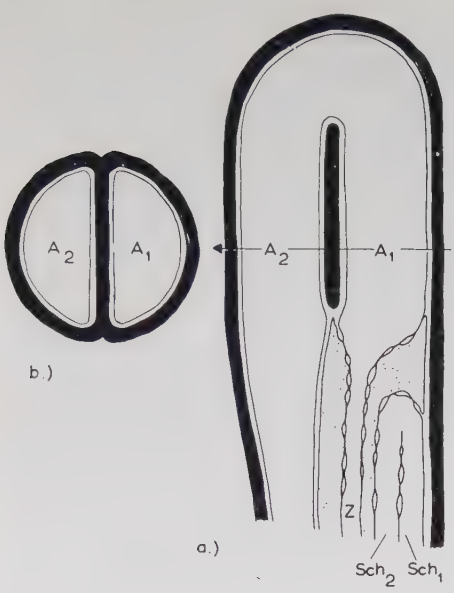
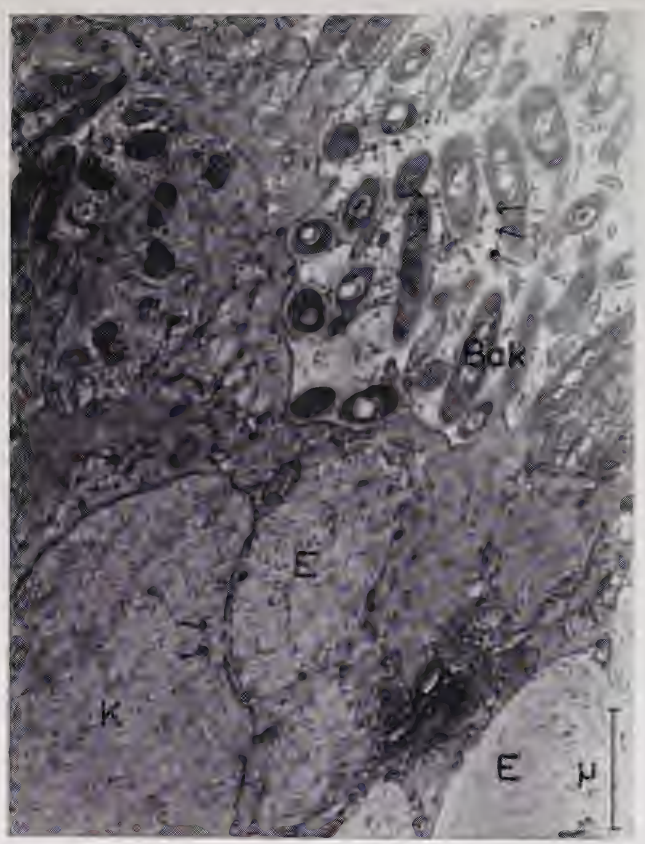


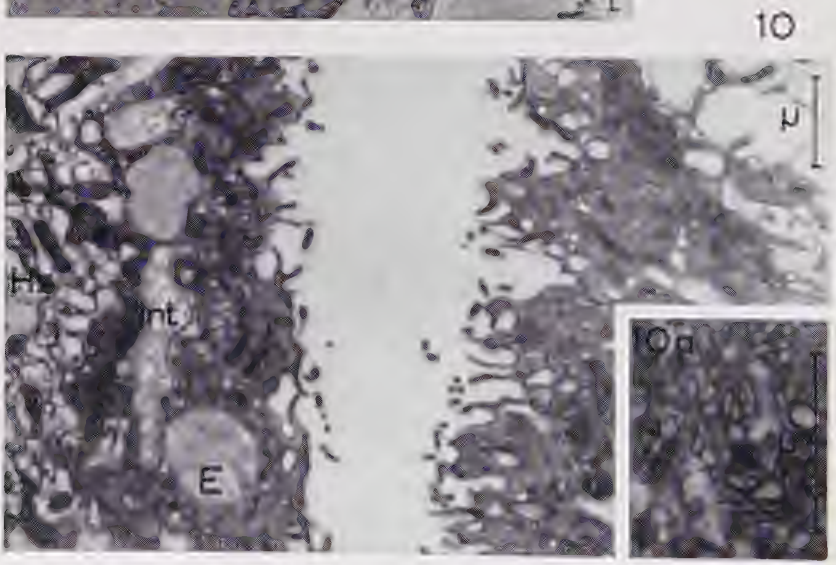
Abb. 6. Schema des Aufbaus des freien Endes der „langen (großen, zweiten) Schleife". Cölomepithel schwarz ausgezogen, Schichten Interzellularsubstanz und Kanallumen weiß, Hüllzellen punktiert. a) Längsschnitt, b) Querschnitt; A_1 erster, A_2 zweiter Schenkel der Ampulle; Sch_1 und Sch_2 = die beiden Schenkel des Schleifenkanals. Nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

d) Die Ampulle

An der Spitze der „großen Schleife" geht der Zilienkanal in die Ampulle über. Der Durchmesser des Lumes und die Höhe der Zellen nehmen plötzlich stark zu. Zilien und Bürstensäume verschwinden. In den Zellen werden Fibrillen beschrieben, die sich überkreuzen und so ein Netz bilden (Maziarski 1903). In den Maschen dieses Netzes befindet sich eine Substanz, die sich nicht in allen Maschen gleichförmig anfärbt, so daß der Eindruck eines Schachbrettmusters entsteht. Cordier (1934) bezeichnet das Plasma dagegen als klar und mit einer großen Zahl von Vakuolen gefüllt.

Auf der dem Kanallumen zugewandten Zelloberfläche bilden feine, stäbchenförmige, stark anfärbbare Gebilde einen dichten Saum. Maziarski (1903) erkannte als erster, daß es sich um Bakterien handelt. Wegen des scharf abgegrenzten Vorkommens in der Ampulle vermutete er eine Symbiose. Genauere Untersuchungen unternahm der Schüler Buchners Knop (1926), der ein ähnliches Vorkommen von Bakterien in einer ganzen Reihe von Oligochaeten entdeckte. Mehrere Tatsachen sprechen für eine Symbiose. Der Wirt scheint das Vorkommen der Mikroorganismen regulieren zu können, da sie nur an einer bestimmten Stelle im Nephridium vorkommen. Knop (1926) wies die regelmäßige Übertragung der Bakterien auf die Nachkommen des Regenwurmes nach. Während die Bakterien normalerweise durch eine gallertige Substanz in der Ampulle fixiert zu sein scheinen, lösen sie sich in der Fortpflanzungszeit des Regenwurmes los und geraten durch den Nephridialkanal in die Endblase. Später findet man sie in der Flüssigkeit des Kokons. In den jungen





Aufn. 9. Ausschnitt aus dem apikalen Plasma einer Ampullenzelle, K = Kern, in der Kernmembran erkennt man Poren (Pfeile!); E = Einschlußkörper; G = Golgiregion; Bak = Bakterien im Ampullenlumen. An mehreren Stellen (z. B. s. Pfeile) sieht man dunkle Partikel, die an dem unscharfen Saum der Bakterien festzukleben scheinen. Fixierung 3, Einbettung 2.

Regenwurm dringen sie aus der Kokonflüssigkeit ein, sobald der Nephridioporus durch die Körperwand durchbricht. Erst später gelangt der junge Regenwurm aus dem Kokon heraus.

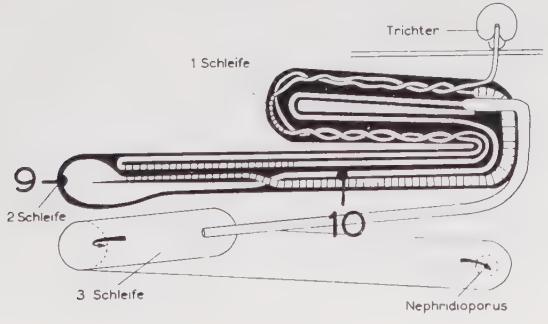
Pandazis (1931) untersuchte die Bedeutung der Bakterien für das Geschehen im Nephridium. Er entnahm Flüssigkeitsproben aus der Ampulle und der Endblase und bestimmte einige Bestandteile der Flüssigkeit. Besonders auffällig sind die Befunde über Eiweiß. Am meisten Eiweiß soll die Cölomflüssigkeit enthalten, etwas weniger die Ampulle. In der Endblase wurde kein Eiweiß nachgewiesen. In der Ampulle war das Eiweiß zum großen Teil in Spaltprodukte zerlegt. Auf Nährböden gezogene Bakterien aus der Ampulle waren in der Lage, Eiweiß zu spalten. Der Autor schließt aus diesen Ergebnissen, daß die Symbionten in der Ampulle Eiweiß spalten, das anschließend von den Ampullenzellen resorbiert wird. Pandazis (1931) benutzte allerdings nur qualitative Methoden.

Im basalen Plasma der Zellen des rückläufigen Schenkels der Ampulle beobachtet man die bereits erwähnten Stäbchenstrukturen (s. S. 204).

Der Übergang in den folgenden Kanalabschnitt, die Ampulle, geht im elektromikroskopischen Bild wieder unter plötzlicher Änderung der Feinstruktur vor sich. Die Wandstärke nimmt von weniger als 2 μ auf Werte über 30 μ zu. Die Zilien sind verschwunden. Im Kanallumen erscheinen Bakterien und in den Ampullenzellen wieder eine große Zahl von Einschlüssen, die sich von den vakuolenartigen Hohlkörpern der Zilienkanalzellen unterscheiden.

Das freie Ende der „langen Schleife" wird ausschließlich von Kanalzellen, Interzellularsubstanz und Cölomzellen gebildet. Die Hüllzellen hören auf der Höhe des Überganges vom Zilienkanal in die Ampulle auf (Abb. 6). Am freien Ende der „Schleife" biegt die Ampulle scharf um und zieht wieder in Richtung des Anfanges der „langen Schleife". Zwischen den beiden Schenkeln der Ampulle befindet sich eine doppelte Schicht Interzellularsubstanz, die eine Schicht Cölomzellen einschließt (Abb. 6). Demnach bildet das Cölomepithel zwischen den beiden Schenkeln derAmpulle hindurch eine Art

Aufn. 10. Längsschnitt durch den vorderen Teil des Bläschenkanals. Hz = Hüllzellen, Int = „Inseln" Interzellularsubstanz, E = Einschlüsse in den Bläschenkanalzellen. Fixierung 1, Einbettung 1.



„Brücke". Es ist nicht zu erkennen, ob diese „Brücke" aus einer doppelten oder einfachen Schicht Cölomzellen besteht.

Auf einem Querschnitt durch die „große Schleife" vor dem Übergang des Zilienkanals in die Ampulle wird nur der zweite Schenkel der Ampulle angeschnitten. Er ist zum größten Teil von Interzellularsubstanz eingehüllt, die von Cölomzellen umgeben ist. In einem kleinen Bereich grenzt die Interzellularsubstanz an Hüllzellen. Die Interzellularsubstanz umläuft auf einem Querschnitt die Ampullenzelle in kontinuierlicher Schicht (Abb. 3).

Am Anfang der Ampulle ist die basale Zellwand glatt. Im Gegensatz dazu haben die Zellen des rückläufigen Schenkels eine Reihe von Einfaltungen der basalen Zellwand in die Zellen hinein. Diese Zellwandeinfaltungen nehmen zum Ende der Ampulle stark zu. In der Nähe der Stelle, an der die Ampulle und der Zilienkanal ihre Lage innerhalb der „Schleife" vertauschen, verschwinden diese Membraneinfaltungen wieder. Von dieser Stelle an wird der Kanal in dieser Arbeit „Bläschenkanal" genannt.

Durch die Zellwandeinfaltungen wird das basale Zellplasma in Räume aufgeteilt. In einigen Fällen sind diese Räume im Schnitt gegen das Apikalplasma geschlossen. Wahrscheinlich handelt es sich in diesem Fall um Schnitte durch basale Zellräume, die nicht in der Ebene des Schnittes mit dem apikalen Plasma der Zelle in Verbindung stehen, oder aber es sind Ausläufer benachbarter Zellen. Im Zusammenhang mit den weit intensiveren Einfaltungen der basalen Zellmembran der Stäbchenkanalzellen wird die Form und Anordnung der durch Einfaltungen der Zellmembran gebildeten Räume ausführlich diskutiert (s. S. 233 f.).

Auf der apikalen Oberfläche der Ampullenzellen fallen zwei Strukturen auf: Bis zu 2,3 μ lange stäbchenförmige Gebilde mit einem Durchmesser zwischen 0,3 und 0,4 μ und verstreut auftretende Mikrovilli.

Nach lichtmikroskopischen Untersuchungen (Knop 1926) erwartet man auf der apikalen Zelloberfläche einen dichten Saum von Bakterien. Im elektronenmikroskopischen Bild findet man eine große Zahl stäbchenförmiger Gebilde, die teilweise frei im Lumen liegen und teilweise in die Zelloberfläche eingepflanzt erscheinen (Aufn. 9). Nach einem Vergleich mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Bakterien (Ryter, Kellenberger, Birch-Andersen und Maløe 1958) muß es sich bei den beobachteten Gebilden um Bakterien handeln.

In dem dunklen Körper der Bakterien fallen einem im elektronenmikroskopischen Bild ein bis zwei helle Räume auf, die in der Literatur als „Nukleoide" oder „Kernvakuolen" bekannt sind (Ryter, Kellenberger, Birch-Andersen und Maløe 1958, Piekarski und Giesbrecht 1956) (Aufn. 16). Während man mit den in der lichtmikroskopischen Technik gebräuchlichen Kernfarbstoffen gerade eine Anfärbung dieser Desoxyribonukleinsäure-haltigen Bezirke erhält, fallen sie elektronenmikroskopisch niemals so auf. Dies liegt wohl daran, daß man mit den in der elektronenmikroskopischen Methodik verwendeten Fixierungsmitteln keine DNS-Strukturen darstellen kann. In meinen Objekten ist die Erhaltung besonders schlecht, da das Fixierungsmittel erst durch die Wandung der Ampulle diffundieren muß, bevor es die Bakterien erreicht.

Außen besitzen die Bakterien einen meist unscharfen Saum. Zwischen den Mikroorganismen befindet sich häufig ein feinkörniges Material (Aufn. 16). An vielen Stellen erscheinen die Bakterien in zipfelförmige apikale Plasmaausstülpungen der Ampullenzellen eingepflanzt, wodurch das Bild kleiner „Bäumchen" entsteht. Andere schneidet man frei im Lumen des Nephridialkanals an.

Knop (1926) stellt die Frage nach der Befestigung der Mikroorganismen, da man trotz des Flüssigkeitsstromes im Nephridialkanal normalerweise keine Bakterien unterhalb der Ampulle findet. Er beobachtet zwischen den Bakterien ein körniges Material und nimmt an, daß durch diese Substanz die Mikroorganismen in der Ampulle festgehalten werden. Auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen sieht man zwischen den Bakterien einige Mikrovilli. Diese haben einen Durchmesser von 700 Å. Die Länge läßt sich schwer angeben, da man selten einen Mikrovillus in der ganzen Länge anschneidet. Sie müssen jedoch sehr lang sein, da man Anschnitte noch in weiter Entfernung vom apikalen Zellrand erhält. Es wurde bereits angegeben, daß man um die Bakterien herum einen nach außen schlecht abzugrenzenden Saum beobachtet. An diesem Saum bleiben im Kanallumen befindliche Partikel kleben (Aufn. 9, Pfeile). Zuweilen sieht man auch Mikrovilli an diesem Saum befestigt. Es liegt die Deutung nahe, daß die Bakterien durch Festkleben an den Mikrovilli vor dem Fortschwemmen bewahrt werden. Vielleicht hilft hierbei auch die vorhin erwähnte zwischen den Bakterien auftretende körnige Substanz.

Einigemale wurden in den Ampullenzellen Kerne angeschnitten (Abb. 3, Aufn. 9). Auf den Schnitten ist meist ein Nukleolus sichtbar. Die doppelte Kernmembran erscheint an mehreren Stellen unterbrochen und besitzt demnach kleine Poren (Aufn. 9, Pfeile).

Neben Kernen beobachtet man in den Ampullenzellen immer eine große Zahl von Einschlußkörpern, viele Mitochondrien und mehrere Golgiapparate.

Ähnlich wie im ersten Teil des Zilienkanals wird der größte Teil des Zellraumes von Einschlußkörpern ausgefüllt. Das Zellplasma erscheint auch hier wieder auf ein Gerüst zwischen den Einschlußkörpern reduziert. Dieser Aufbau führte wohl bei der lichtmikroskopischen Untersuchung zu dem Eindruck eines Fibrillennetzes, von dem Maziarski (1903) spricht. Cordier (1934) beschreibt dagegen bereits eine große Zahl von Vakuolen, die sicher den elektronenmikroskopisch sichtbaren Einschlußkörpern entsprechen.

Die Einschlußkörper sind meist oval und liegen mit der längeren Achse in basoapikaler Richtung. Die größten auf meinen Aufnahmen maßen $6 \times 1{,}6\ \mu$, die kleinsten $0{,}6 \times 0{,}5\ \mu$. Die meisten Einschlüsse sind größer als die vakuolenartigen Hohlkörper des Zilienkanals. Zum Plasma der Ampullenzellen hin sind sie häufig schlecht abgegrenzt. In einigen Fällen sieht man eine dünne Membran (Aufn. 9). Im Innern der Körper befinden sich kleine Brocken eines sehr dunklen Materials, oder man erkennt lamellige Strukturen. Die Zahl der Einschlußkörper nimmt zum Ende der Ampulle allmählich ab. Wenn die basalen Zellwandeinfaltungen ihre größte Zahl erreichen, sieht man nur noch wenig Einschlüsse.

Die Mitochondrien sind in den vorderen Ampullenzellen oval und haben etwa die gleiche Größe wie im Schleifenkanal. Im letzten Teil der Ampulle ordnen sich die Mitochondrien in den durch Einfaltungen der basalen Zelloberfläche gebildeten Plasmaräumen in Reihen an. In dieser Region sind sie meist stäbchenförmig und haben eine Länge von maximal $1{,}5\ \mu$.

Im lichtmikroskopischen Schrifttum (Maziarski 1903) werden in den basalen Teilen der Ampullenzellen Stäbchenstrukturen beschrieben. Diese lichtmikroskopisch sichtbare Struktur wird sicher durch den Aufbau aus Plasmaräumen, in denen Mitochondrien aufgereiht sind, hervorgerufen. Auch in anderen Exkretionsorganen haben sich lichtmikroskopisch sichtbare Stäbchenstrukturen als ge-

ordnete Struktur von Mitochondrien und Membranen herausgestellt (s. S. 263 ff).

Golgiapparate werden besonders deutlich nach der Fixierung mit Permanganat beobachtet. Man findet sie am häufigsten in der Nähe des Kernes.

e) Der Bläschenkanal

Wenn die basalen Stäbchenstrukturen und der Bakteriensaum der Ampullenzellen aufhören, beginnt ein Tubulusabschnitt, der lichtmikroskopisch kaum vom Schleifenkanal zu unterscheiden ist. Nach Maziarski (1903) sind die Kanalzellen durch 2—2,5 μ lange Härchen ausgezeichnet, die einen Bürstensaum bilden.

Auf den elektronenmikroskopischen Aufnahmen ändert sich beim Übergang der Ampulle in den Bläschenkanal die Struktur nicht plötzlich, sondern allmählich. Die Einfaltungen der basalen Zellmembran nehmen ab und die Einschlußkörper verschwinden. Im Kanallumen findet man keine Bakterien mehr. Die apikale Zelloberfläche ist sehr unregelmäßig gestaltet. Die Wandung des Bläschenkanals ist dünn. Sie erreicht meist nur eine Dicke von 2—3 μ, maximal 4 μ. Im Plasma der Kanalzellen beobachtet man eine charakteristische Struktur von sehr kleinen rundlichen und länglichen Bläschen. Der Übergang der Ampulle in den Bläschenkanal fällt etwa mit dem Wechsel der Lage von Zilienkanal und Ampulle (bzw. Bläschenkanal) im Gewebe der „Schleife" zusammen. Eine scharfe Grenze läßt sich nicht ziehen.

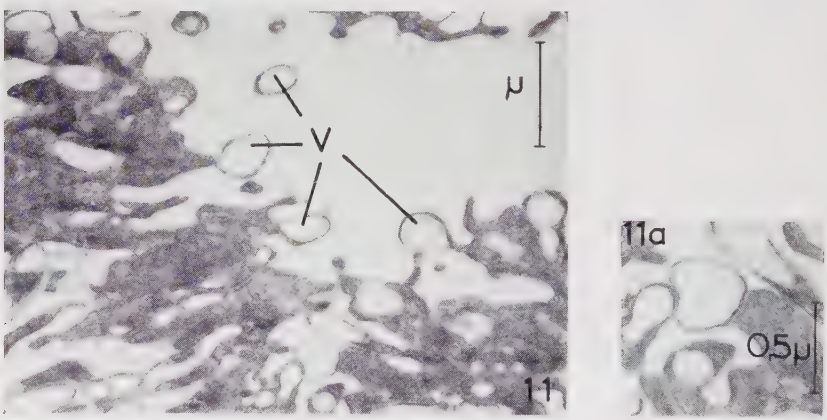
Der Bläschenkanal liegt in seiner ganzen Länge immer inmitten des Gewebes der „langen" und „kurzen Schleife". Deshalb ist er immer von Hüllzellen umgeben. Wie die Zellen des Schleifen- und eines Teiles des Zilienkanals stehen die Kanalzellen an verschiedenen Stellen mit den Hüllzellen in Kontakt. Zwischen diesen Stellen sieht man im Schnitt wieder „Inseln" Interzellularsubstanz. In einem Fall wurde beobachtet, daß der Bläschenkanal vom benachbarten Schenkel des Schleifenkanals (Sch_2) nur durch eine Schicht Interzellularsubstanz und nicht durch Hüllzellen getrennt war.

Die dem Lumen zugewandte Zelloberfläche ist sehr unregelmäßig gestaltet. Zottenförmige Vorsprünge der Kanalzellen tragen eine größere Zahl feinerer Zellausstülpungen (Aufn. 10). Diese haben Ähnlichkeit mit Mikrovilli. Ihre Gestalt weicht jedoch von der regelmäßigen Stäbchenform ab. Im ersten Schenkel der „kurzen Schleife" sind die Zellausstülpungen gröber. Sie enthalten Vakuolen

mit einem Durchmesser um 5 μ. Das Plasma der Zellausstülpungen erscheint bis auf einen dünnen Mantel um die Vakuolen verdrängt. Einige Vakuolen sieht man abgetrennt von der Zelle im Kanallumen, auch sie scheinen noch eine dünne plasmatische Umhüllung zu besitzen (Aufn. 11). Diese Gebilde werden später noch ausführlicher behandelt (s. S. 281 f.). Von Maziarski (1903) beschriebene bis zu 2,5 μ lange „Härchen" auf der apikalen Oberfläche der Bläschenkanalzellen habe ich nicht gesehen. Auf meinen elektronenmikroskopischen Aufnahmen erreichen die unregelmäßig gestalteten Zellausstülpungen meist kaum 1 μ Länge. Bei besonders schlecht erhaltenen Zellen sieht man zuweilen sehr viel längere Zellausläufer. Es ist zu erwarten, daß die Schädigung des Gewebes bei der lichtmikroskopischen Fixierung weit stärker ist als bei der elektronenmikroskopischen, und daß im Lichtmikroskop auf Grund der Bildung von Artefakten sehr lange „Härchen" beobachtet werden.

Kerne sind, wie in den meisten Abschnitten des Nephridialkanals, im Bläschenkanal sehr selten. Es wurde nur ein Kern gefunden. Ein Nukleolus war nicht zu sehen.

Die Mitochondrien gleichen in Gestalt, Anzahl und Größe denen der Schleifenkanalzellen.



Aufn. 11. Teil eines Querschnittes durch den letzten Abschnitt des Bläschenkanals. Das dunkle Gewebe ist die Kanalzelle. Die apikale Zelloberfläche ist zu unregelmäßigen Zellausläufern ausgezogen. In einigen dieser Ausläufer erkennt man große Vakuolen (V), die auch frei im Lumen angeschnitten werden können. Es wird angenommen, daß diese Vakuolen Ausscheidungsprodukte enthalten und, umgeben mit einer dünnen plasmatischen Hülle, in das Kanallumen abgegeben werden. Aufn. 11 a ist ein vergrößerter Ausschnitt aus Aufn. 11 und zeigt eine der Vakuolen kurz vor der angenommenen Ablösung von der Kanalzelle. Fixierung 2, Einbettung 1.

Ein sehr charakteristisches Merkmal der Bläschenkanalzellen ist eine große Zahl bläschenartiger Strukturen, mit denen das Zellplasma vollständig gefüllt zu sein scheint (Aufn. 10 a). Man sieht zum größten Teil rundliche, in einigen Fällen auch ovale und längliche Abschnitte. Es könnte sich um Anschnitte eines tubulären Systems nach Art des „Endoplasmatischen Reticulums" handeln. Da keine Serienschnitte angefertigt wurden, kann nicht angegeben werden, ob die einzelnen beobachteten Hohlräume wirklich zusammenhängen. Es ist eigentümlich, daß diese Struktur nach der Fixierung mit Osmiumsäure weit deutlicher als nach Permanganat ist. Sonst werden plasmatische Membransysteme im Nephridium immer mit der Permanganat-Fixierung besser dargestellt. Die Durchmesser der Bläschenstrukturen liegen meist unter 600 Å. Da die beschriebene Struktur für diesen Kanalabschnitt so charakteristisch ist und eine Unterscheidung von allen anderen Kanalabschnitten erlaubt, wurde sie zur Namensgebung benutzt.

Besonders in der Nähe des Lumens sieht man neben diesen Bläschen größere Vakuolen, bei denen in einigen Fällen ein dunkler Inhalt zu sehen ist. Der Inhalt einiger dieser Vakuolen steht mit dem Kanallumen in Verbindung (Aufn. 10).

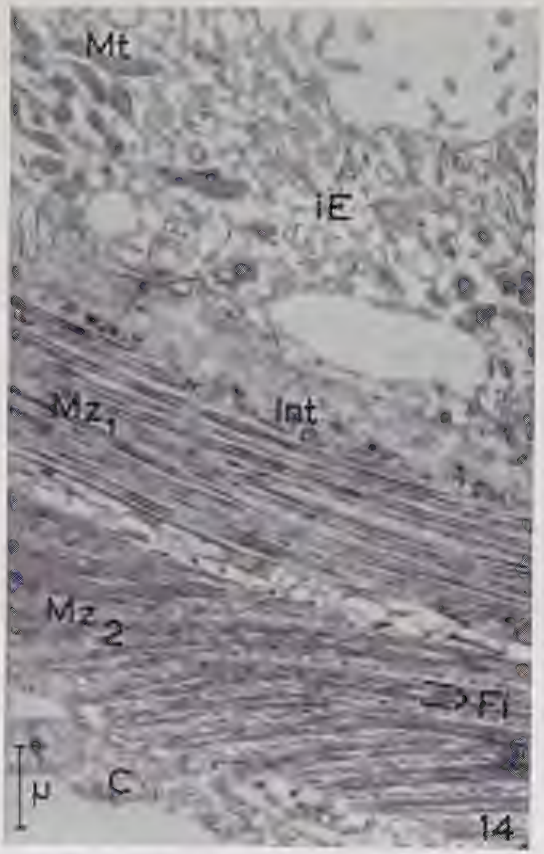
Außer diesen Strukturen liegen im Plasma Einschlußkörper, deren Größe um $1 \times 1{,}5\ \mu$ beträgt. Der Inhalt wirkt körnig oder zeigt eine streifige Struktur. In einiger Entfernung von der Ampulle sind diese Einschlußkörper nicht mehr zu finden. Sie sind vielleicht identisch mit den Einschlüssen in den Ampullenzellen.

Wie bei anderen Kanalabschnitten wird das Plasma der Bläschenkanalzellen von Bündeln aus Elementarfibrillen durchzogen.

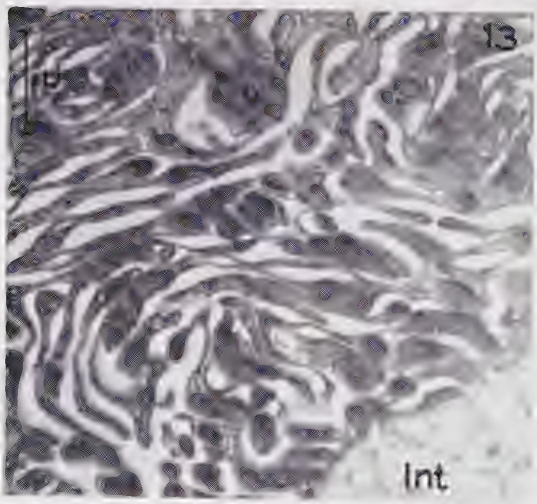
Auf Bildern mit Permanganat fixierter Nephridien fällt ein dunkler Saum auf, der in etwa $1\ \mu$ Entfernung vom apikalen Zellrand das Kanallumen vollständig umzieht. Ein ähnlicher Saum wurde in den Zellen des folgenden Stäbchenkanals beobachtet. Bei den mit Osmiumsäure fixierten Objekten ist im Bläschen- und Stäbchenkanal an dieser Stelle kein Saum zu sehen.

f) Der Stäbchenkanal

Das Charakteristikum dieses Kanalabschnittes sind die besonders scharf hervortretenden Stäbchenstrukturen im basalen Plasma der Tubuluszellen. Die Zahl der Fibrillenstrukturen ist besonders groß. In Richtung zur Blase nimmt die Dicke der Wandung ab, und die Stäbchenstrukturen werden seltener und heller. Der Stäbchenkanal ist nicht von Hüllzellen umgeben.


Mt
iE
Mz1
Int
Mz2
Fl
μ
C
14

Mt
Mt
Mt
Mt
0,5μ
12


μ
13
Int

12a
Mt
μ

Auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen ist der Kanal von Cölomepithel umgeben. Zwischen dem Cölomepithel und den Kanalzellen befindet sich eine kontinuierliche Schicht Interzellularsubstanz.

Die Dicke der Kanalwandung beträgt am Anfang bis zu 15 μ und sinkt zur Blase hin auf 2—4 μ ab. Die Länge der Kanalzellen ist nicht ermittelt worden, da nie ein vollständiger Längsschnitt einer Zelle beobachtet wurde.

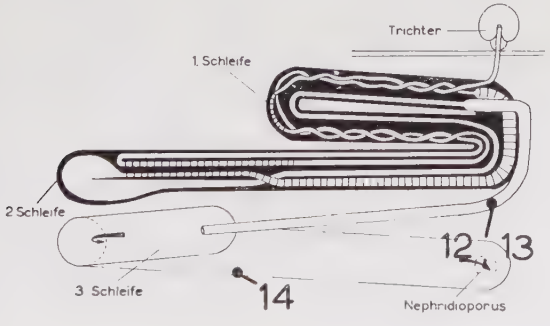
Am Anfang des Stäbchenkanals ist die basale Oberfläche der Kanalzellen in außerordentlich starkem Maße in die Tubuluszellen hinein eingefaltet (Aufn. 12, 12 a). Die Einfaltungen dringen bei einer Wandstärke des Kanals von 10 μ bis zu 7—8 μ tief in die Zellen ein. An einigen Stellen kann man auf einem Schnitt über 10 Einfaltungen der Membran auf einem Mikron zählen, so daß sehr enge Räume aus dem Zellplasma abgeteilt werden. Wie ein Tangentialschnitt durch den Stäbchenkanal zeigt (Aufn. 13), werden

Aufn. 12. Ausschnitt aus dem basalen Plasma einer Stäbchenkanalzelle. Man erkennt langgestreckte Doppelmembranzüge. In den durch diese Membran eingeschlossenen Plasmalamellen liegen Mitochondrien (Mt). Fixierung 3, Einbettung 2.

Aufn. 12 a. Ausschnitt aus dem basalen Plasma einer Stäbchenkanalzelle. Am basalen Zellrand kann man deutlich erkenen, daß die Doppelmembranen durch Einfaltungen der basalen Zellmembran gebildet werden (Pfeile). Mt = Mitochondrien. Fixierung 3, Einbettung 2.

Aufn. 13. Schnitt durch die basale Region einer Stäbchenkanalzelle. Im Gegensatz zu Aufn. 12 und 12 a sind hier die basalen Plasmalamellen meist quer getroffen. Es sind Zellräume sehr variabler Gestalt. Außerdem sind auf Aufn. 13 im Gegensatz zu Aufn. 12 u. 12 a die basalen Plasmalamellen weit voneinander getrennt (Fixierung!). Fixierung 2, Einbettung 1.

Aufn. 14. Schnitt durch die Wand der Endblase. Zu erkennen sind das „Innere Epithel" (iE), die kontinuierliche Schicht Interzellularsubstanz (Int); zwei Muskelzellen (Mz_1 und Mz_2) und das Cölomephitel (C). Im Plasma der Zellen des „Inneren Epithels" liegen einige Mitochondrien (Mt). In den Muskelzellen befinden sich Muskelfilamente, die zu Gruppen, den Fibrillen (Fi), zusammengefaßt sind. Zwischen den Muskelfibrillen liegen Reihen von Partikeln und Bläschen (s. Abb. 10) Fixierung 1, Einbettung 1.



durch die Membraneinfaltungen lamellenartige Räume von sehr variabler Form gebildet. Bei mit Permanganat fixierten Objekten liegen an einigen Stellen die Lamellen dicht nebeneinander, so daß im Schnitt das Bild einander parallel das Plasma durchziehender Doppelmembranen entsteht (Aufn. 12). Der Abstand der beiden Membranen einer Doppelmembran entspricht dem Abstand der Zellmembranen von zwei verschiedenen Zellen. An anderen Stellen sieht man zwischen benachbarten Lamellen verschieden große Lücken. Nach Fixierung mit Osmiumsäure sind die Plasmalamellen immer durch einen extrazellulären Raum voneinander getrennt (Aufn. 13).

Im Schnitt stehen viele der basalen Plasmaräume mit dem apikalen Plasmaraum in Verbindung. In einigen Fällen kann man Plasmalamellen nicht von basal nach apikal verfolgen. Wie bereits bei den Zellwandeinfaltungen der Ampullenzellen bemerkt, liegt die Einmündung der Lamelle in das Apikalplasma in diesem Fall vermutlich in einer anderen Ebene als die Schnittebene, oder es handelt sich um Abschnitte von Ausläufern benachbarter Zellen.

Neben längs getroffenen basalen Plasmalamellen sieht man häufig runde Anschnitte. Diese kann man wohl für Querschnitte durch Plasmaportionen an Stellen halten, an denen die basalen Plasmaräume nicht lamellenförmig sondern stäbchenförmig sind.

Bisher wurden die basalen Plasmalamellen beschrieben, als seien sie durch Einfaltungen der basalen Zellmembran entstanden. Man kann auch umgekehrt von der Seite der Zelle her die basalen Plasmaportionen als Ausspülpungen der Zelle auffassen, ähnlich wie am apikalen Zellrand in einigen Abschnitten des Nephridialkanals Mikrovilli als stäbchenförmige Ausstülpungen des apikalen Plasmas beschrieben wurden. Wie aus Tangentialschnitten hervorgeht, besitzen die basalen Zellausläufer eine weit unregelmäßigere Gestalt als Mikrovilli (Aufn. 13).

Mit der Abnahme der Zellhöhe in Richtung zur Blase verringert sich auch die Anzahl und Tiefe der Zellwandeinfaltungen. Das letzte Drittel des Stäbchenkanals besitzt diese Strukturen kaum noch.

Die apikale Zelloberfläche der Stäbchenkanalzellen ähnelt am Anfang etwas der Oberfläche von Bläschenkanalzellen. Sie erscheint unregelmäßig in Zellausläufer ausgezogen. In der Nähe der Blase ist der Zellrand wellig und die Zellausstülpungen haben eine regelmäßigere Gestalt. Sie gleichen jetzt eher den Mikrovilli, bilden jedoch niemals einen Stäbchensaum.

Es wurden nur dreimal K e r n e angeschnitten. Der größte Anschnitt maß 16,5 × 4 μ. Die Gestalt ist unregelmäßig. Ein Nukleolus wurde nicht beobachtet.

M i t o c h o n d r i e n sind im Stäbchenkanal in großer Zahl vorhanden. In den basalen Plasmalamellen des ersten Teiles sind sie hintereinander angeordnet (Aufn. 12, 12 a). Sie können hier bis zu 2 μ lang werden. Die Mitochondrien sind zwischen den Membraneinfaltungen der Stäbchenkanalzellen weit zahlreicher als in den basalen Zellräumen der Ampullenzellen. Näher zur Blase hin findet man Mitochondrien vor allem dicht gedrängt ohne auffällige Ordnung in den basalen Zellbereichen. In der Größe ähneln sie hier den Mitochondrien im Schleifenkanal.

In den meisten Zellen des Stäbchenkanals findet man kleine B l ä s c h e n und V a k u o l e n. Im letzten Teil des Kanalabschnittes können Bläschen in recht großer Zahl auftreten. Es ergibt sich jedoch nie das charakteristische Bild, das wir in den Bläschenkanalzellen kennengelernt haben.

Es fallen vor allem vier verschiedene Arten von E i n s c h l ü s s e n auf: Innerhalb der basalen Plasmalamellen im ersten Teil des Stäbchenkanals liegen zwischen den Mitochondrien bis zu 1 × 0,5 μ große Granula, deren Inhalt teilweise die gleiche Dichte wie das umgebende Plasma hat, jedoch außerdem eine dunkle Fleckung zeigt.

Die zweite und dritte Art Einschlüsse wurde nur in einem Nephridium beobachtet. Das Plasma enthielt etwa 1,5 × 3 μ große Einschlüsse, die innen eine Struktur aus konzentrisch angeordneten Membranen und einige dunkle Partikel enthielten. Außerdem sah man Gruppen runder Einschlußkörper mit einem Durchmesser zwischen 0,7 und 1 μ. Sie enthielten feinkörniges Material.

Die vierte Art Einschlüsse sind die bereits im Trichterhals und in anderen Kanalabschnitten geschilderten „grauen Granula", die vom umgebenden Plasma schlecht abgegrenzt sind.

Wie beim Bläschenkanal findet man Golgiapparate vorwiegend in der Nähe des Kanallumens.

Der nach der Fixierung mit Permanganat auftretende dunkle, das Kanallumen umgebende Saum im apikalen Plasma wurde bereits zusammen mit einer ähnlichen Struktur in Bläschenkanalzellen geschildert (s. S. 231). Es könnte sein, daß dieser Saum einer größeren Menge Elementarfibrillen entspricht. Bei der Referierung der lichtmikroskopischen Literatur wurde angegeben, daß die Zahl der

fibrillären Elemente im Stäbchenkanal besonders groß ist (s. S. 231). Im Gegensatz dazu wurden bei mit Osmiumsäure fixierten Objekten am Anfang dieses Kanalabschnittes gar keine Elementarfibrillen beobachtet. Erst näher zur Blase hin traten sie wieder in größerer Zahl in Erscheinung.

g) Die Endblase

Maziarski (1903) ist der Auffassung, daß die Blase nicht einfach ein Stück des Nephridilkanals ist, sondern eine Bildung für sich. Er begründet diese Auffassung mit der Beobachtung, daß der Übergang vom Stäbchenkanal in die Blase einem Durchbruch eines Kanals in den anderen gleicht. Der letzte Teil des Stäbchenkanals läuft zunächst ein größeres Stück innerhalb der Wand der Blase, bevor sein Lumen in das der Blase übergeht. Auf Querschnitten durch den Anfang der Blase sieht man deshalb zwei Lumina nebeneinander. Diese an sich naheliegende Auffassung steht im Gegensatz zu den neueren Untersuchungen über die Entstehung des Nephridiums, wonach alle Nephridienteile einschließlich der Blase zusammen aus dem Nephridioblasten hervorgehen.

Am Aufbau der Blase sind eine Reihe von Zellen beteiligt, deren Zuordnung zu den einzelnen Geweben, die man an anderen Stellen des Nephridiums beobachtet, schwer fällt. Das Lumen wird für interzellulär gehalten. Selten sieht man in den flachen Kanalzellen einen Kern. Um die Kanalzellen herum ist ein Gitterwerk aus Muskelfasern ausgebildet. Gegenbaur (1853) beschreibt zwischen den Kanalzellen und den Muskelfasern eine helle Membran. Eine einheitliche Cölomzellenschicht um die Muskelfasern herum ist schwer auszumachen. Maziarski (1903) schildert vom Lumen her in die Kanalzellen eindringende kleine Kanälchen, hält es jedoch für möglich, daß diese Kanälchen durch die Einfaltung der Blasenwand bei der Kontraktion der Muskelfasern vorgetäuscht werden.

Im Innern der Blase finden sich häufig Parasiten. Es handelt sich dabei nach Maziarski (1903) und Cuénot (1898) um die Gregarinengattung *Monocystis* und den Nematoden *Rhabditis pellio* Sch. Die Nematoden sollen häufig in die Blasenwand eindringen.

Da im Lichtmikroskop selten Zellgrenzen gesehen wurden, ist der gewebliche Aufbau der Blase bisher unklar geblieben. Nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen setzt sich die Endblase aus vier Schichten zusammen (Aufn. 14). Das Lumen wird umschlossen von einem flachen 1–4 μ dicken Epithel, das ich „Inneres Epithel" nenne. Das „Innere Epithel" ist, wie die Kanalzellen in den übrigen Abschnitten des Nephridialkanals, von einer Schicht Interzellularsubstanz umgeben. Wie beim Stäbchenkanal ist diese Schicht kontinuierlich. Nach außen, zur Cölomhöhle hin, folgt eine Schicht Muskelzellen. Ganz außen sieht man eine größere Zahl verschieden gestalteter Zellen. Da diese Zellen die Begrenzung zum Cölomraum

bilden, muß man sie wohl als Cölomzellen auffassen. Sie bilden nicht, wie in den anderen Teilen des Nephridiums, ein flaches, regelmäßiges Epithel. An einigen Stellen ist die Cölomzellenschicht mehrere Zellen dick, an anderen Stellen sieht man nur eine Zelle zwischen den Muskelzellen und dem Cölomraum.

Nach der Lage der Schicht Interzellularsubstanz kann man annehmen, daß das „Innere Epithel" dem Tubulusepithel der vorhergehenden Abschnitte entspricht.

Zwischen den Muskelzellen und den Cölomzellen befindet sich keine Schicht Interzellularsubstanz, sondern beide stoßen direkt aneinander. Man kann sich deshalb vorstellen, daß die Muskelzellen aus Cölomzellen hervorgegangen sind. Im Prinzip entspricht dann der Aufbau der Blase dem des Stäbchenkanals: Innen befindet sich eine Zellschicht, die in der Entwicklung aus der vom Nephridioblasten abgegebenen Reihe von Nephridienzellen hervorgegangen ist, außen befinden sich Cölomzellen. Cölomzellen und Zellen des Nephridialkanals sind durch eine Schicht Interzellularsubstanz voneinander getrennt.

Leider fand ich unter meinen Aufnahmen nicht die Stelle, an der das Lumen des Bläschenkanals in das der Blase übergeht. Auf Schnitten kurz davor sieht man das weite Lumen der Endblase und das Lumen des Stäbchenkanals nebeneinander. Sowohl der Stäbchenkanal als auch die Blase haben eine eigene zellige Wandung, die von einer Schicht Interzellularsubstanz umgeben ist. Zwischen den Stäbchenkanalzellen und dem Epithel, das das Lumen der Blase umgibt, liegen Cölomzellen und Muskelzellen.

Es sollen an dieser Stelle nur die Strukturen des „Inneren Epithels" betrachtet werden, die Muskel- und Cölomzellen werden gesondert behandelt (s. S. 259 und 245).

Die basale Zellmembran liegt der bereits erwähnten Schicht Interzellularsubstanz an. Nach Fixierung mit Osmiumsäure nach Sjöstrand (1955) ist die basale Zellwand an vielen Stellen von der Schicht Interzellularsubstanz abgetrennt. Bei Objekten, die mit Osmiumsäurelösung nach Palade (1952) und mit Permanganat fixiert wurden, wurde dies nicht beobachtet. Die Ablösung wird demnach wohl ein Artefakt sein. Häufig erkennt man eine Reihe von Einstülpungen der basalen Zellmembran, die in den meisten

Fällen zum apikalen Plasma abgeschlossene Räume abteilen. Es handelt es sich hier wohl um Anschnitte von Ausläufern benachbarter Zellen. Da man diese Bilder häufig beobachtet, muß man annehmen, daß die Zellen des „Innern Epithels" sich recht stark verzahnen.

Die apikale Zelloberfläche hat eine wellenförmige Gestalt. Man erkennt eine Anzahl Mikrovilli-ähnlicher Ausstülpungen des apikalen Plasmas, die jedoch keine so regelmäßige Gestalt wie die Mikrovilli des Schleifen- und des Zilienkanals besitzen.

Sehr häufig findet man taschenförmige Einbuchtungen des Lumens in die Zellen hinein. Bei der Präparation kontrahiert sich die muskulöse Wand der Blase regelmäßig. Man kann sich vorstellen, daß sich das „Innere Epithel" hierbei einfaltet und dadurch die Bildung der „Taschen" hervorgerufen wird. Bei mit Permanganat fixierten Nephridien ist die Wandung besonders auffällig gefaltet.

Nur einmal wurde ein K e r n angeschnitten. Er ist auf der Aufnahme nur zum Teil zu sehen, so daß die Größe nicht angegeben werden kann. Ein Nukleolus wurde nicht beobachtet.

Die M i t o c h o n d r i e n sind teilweise recht groß, das größte maß $2 \times 0{,}5\ \mu$.

Es fallen vor allem zwei Arten von E i n s c h l u ß k ö r p e r n auf. Man sieht die bereits häufiger beschriebenen grauen Granula, die zum Plasma schlecht abgegrenzt sind. Außerdem findet man Granula, die innen Membranstrukturen in konzentrischer oder einander paralleler Anordnung besitzen.

Neben diesen charakteristischen Einschlüssen gibt es in den Zellen des „Inneren Epithels" kleine V a k u o l e n und B l ä s c h e n, wie sie in anderen Kanalabschnitten auch auftreten.

In der Endblase des Nephridiums beobachtet man wie oben bereits erwähnt sehr häufig Nematoden. Auf elektronenmikroskopischen Schnitten sieht man Anschnitte von Nematoden zum größten Teil frei im Lumen der Endblase. Am Anfang der Blase sind sie jedoch von Zellen des „Inneren Epithels" eingehüllt. Das Innere der Nematoden ist schlecht fixiert, so daß Einzelheiten nicht zu erkennen sind. Eine Zerstörung der Wand der Endblase durch die Nematoden ließ sich elektronenmikroskopisch nicht nachweisen.

h) Abweichende Nephridien

Das Vorkommen von Bakterien ist im Nephridium gewöhnlich auf die Ampulle beschränkt. Bei einigen Nephridien, die zur gleichen Zeit fixiert wurden, traten Bakterien in dem auf die Ampulle folgenden Bläschenkanal und in der Endblase auf. Ampulle und Stäbchenkanal sind bei diesen Nephridien nicht mit fixiert worden.

Im Bläschenkanal liegen die Bakterien frei im Lumen. In der Blase sind sie nur teilweise frei, erscheinen zum größten Teil jedoch am „Inneren Epithel" befestigt. Der bei den Bakterien der Ampulle beschriebene Saum um jeden Mikroorganismus ist auch bei den Bakterien im Bläschenkanal und in der Endblase zu sehen. Er erscheint hier jedoch häufig nach außen scharf abgegrenzt.

Parallel mit dem Erscheinen von Bakterien im Bläschenkanal und in der Endblase geht eine Änderung der Feinstruktur in den Kanalzellen.

Es erscheint im Plasma eine größere Zahl von Einschlüssen, die in „normalen" Nephridien nur in geringer Zahl ganz am Anfang des Bläschenkanals anzutreffen sind. Die Größe dieser Einschlüsse schwankt zwischen $0{,}9 \times 0{,}6\ \mu$ und $1{,}9 \times 1{,}4\ \mu$. Sie sind zum Plasma durch eine deutliche Membran abgegrenzt. Innen sieht man gelegentlich dunkle Partikel. Meist enthalten sie jedoch feinkörniges Material. In anderen sieht man vakuolenähnliche oder lamellige Strukturen. Außer diesen Einschlüssen sieht man die bereits häufiger beschriebenen grauen Granula in größerer Menge als üblich in den Zellen der Endblase. Die so charakteristischen Bläschenstrukturen der Bläschenkanalzellen fehlen bei den hier behandelten Nephridien vollständig.

Der vor der Ampulle befindliche Zilienkanal zeigt ebenfalls Änderungen der Struktur. Normalerweise ist das Lumen des Zilienkanals recht eng. Bei Nephridien mit Bakterien im Bläschenkanal und in der Endblase ist das Lumen des Zilienkanals ungewöhnlich weit geöffnet. Es wurde bei der Schilderung der Einschlußkörper des Zilienkanals erwähnt, daß, bis auf die ersten Zellen dieses Nephridialkanalabschnittes, ein apikaler Plasmasaum gewöhnlich frei von Einschlußkörpern ist. Bei den hier diskutierten Nephridien findet man auch im apikalen Plasma Einschlußkörper mit sehr hellem Inhalt. Der Inhalt mehrerer dieser Körper steht mit dem Kanallumen in Verbindung. Es wurde bereits vorn angegeben (s. S. 224), daß die Einschlußkörper aus diesem Grund treffender als „vakuolenartige Hohlkörper" zu bezeichnen sind.

Auch das Lumen des Schleifenkanals war sehr weit geöffnet.

Außerdem erschienen mir bei diesen Nephridien die Hüllzellen verändert. Wie erst später genauer geschildert wird (s. S. 242 ff.), sind die Hüllzellen durch eine große Zahl von Membranstrukturen ausgezeichnet. In der „langen Schleife" durchziehen in den meisten Fällen langgestreckte Membranzüge den Innenraum der Hüllzellen. Bei den Nephridien mit dem nicht gewohnten Vorkommen von Bakterien im Bläschenkanal und in der Endblase sieht man keine langgestreckten Membranzüge, sondern einzelne vakuolenartige Gebilde.

Nach Knop (1926) geschieht die Übertragung der symbiontischen Mikroorganismen der Ampulle durch Abgabe der Bakterien in die Kokonflüssigkeit. Kurz vor der Eiablage lösen sich die Bakterien aus der Ampulle und werden durch den Nephridialkanal in die Blase gespült. Aus der Blase gelangen sie beim Vorbeigleiten des Kokons am Nephridioporus in die Kokonflüssigkeit, halten sich in dieser eine Zeit lang auf und gelangen schließlich bei Durchbruch der Nephridien des jungen Regenwurmes durch die Körperwand aus der Kokonflüssigkeit in dessen Ampullen (s. S. 225).

Die Regenwürmer, denen die oben beschriebenen Nephridienteile entnommen wurden, waren große Tiere mit stark geschwollenem Clitellum. Es ist anzunehmen, daß zufällig Nephridien fixiert wurden, bei denen die Bakterien gerade auf dem Wege in die Endblase waren, um anschließend auf die Kokonflüssigkeit übertragen zu werden. Es ist mir nicht mehr erinnerlich, aus welchen Segmenten gerade diese Nephridien stammten. Es wurde vorn (s. S. 194) angegeben, daß in dieser Arbeit nur Nephridien der Segmente 19—32, seltener bis 40 untersucht wurden. Das Clitellum, von dem die Wand des Kokons und die Kokonflüssigkeit gebildet wird, befindet sich bei *Lumbricus terrestries L.* an den Segmenten 32 —37. Der Kokon wird über das Vorderende abgestreift, wobei zunächst die Eier in die Kokonflüssigkeit abgegeben werden und anschließend aus den Receptacula seminis das Sperma. Da der Kokon vom Clitellum aus nach vorn abgestreift wird, können also nur Bakterien der Nephridien vor dem Clitellum übertragen werden. In unserem Fall bedeutet das, daß die fraglichen Nephridien aus den Segmenten 19—37 stammen müssen und nicht aus einem der Segmente 37—40, die gelegentlich auch benutzt worden sind.

Es ist anzunehmen, daß das ungewohnt weite Lumen des Zilienkanals bei den hier diskutierten Nephridien auch im Zusammenhang steht mit dem Transport der Bakterien in die Endblase. Es ist für diesen Transport sicher ein verstärkter Flüssigkeitsstrom nötig, der durch den Zilienschlag im Tubulus hervorgerufen werden muß. Ver-

mutlich wird der Zilienschlag bei weitem Lumen weniger gehindert, als in einem zusammengepreßten Kanal. Außerdem nimmt die Reibung mit wachsendem Durchmesser ab. Ähnliches gilt für den Schleifenkanal.

Der Wechsel der Feinstruktur ist wohl in Verbindung mit einem zu erwartenden Wechsel der Vorgänge im Nephridialkanal zu verstehen. Vielleicht setzt beim Bakterientransport die normale Funktion des Nephridiums vollständig aus.

2. 4 Die Feinstruktur der anderen Gewebe des Nephridiums

a) Die Hüllzellen

Die „erste" und „zweite Schleife" bestehen aus dem Cölomepithel, den Schlingen des Nephridialkanals und den „Hüll-" oder „Mantelzellen". Die Bezeichnungen „Hüll-" und „Mantelzellen" stammen von Maziarski (1903). Benham (1891) spricht von „Bindegewebszellen". Es besitzt nicht jeder Kanalabschnitt innerhalb der „Schleifen" eine eigene Scheide aus Hüllzellen, sondern die großen Mantelzellen berühren meist mehrere der nebeneinanderliegenden Kanalabschnitte. Deutlich ist die Anordnung in der „großen Schleife" zu beobachten. In der „kleinen Schleife" sind die Verhältnisse weniger klar, da die Kanalabschnitte stark gewunden sind. Zwischen die Mantelzellen dringen Blutkapillaren ein. Das Plasma der Hüllzellen erscheint fibrillär oder fibrillär-granulös. An einigen Stellen sind die Fibrillen senkrecht auf die Längsachse des umschlossenen Kanals orientiert. In den Hüllzellen, die den Zilienkanal in der Nähe der Ampulle umgeben, findet man als besondere Differenzierung dieser Fibrillen die bereits häufiger beschriebenen Stäbchenstrukturen. Gewöhnlich bilden feine Fibrillen im Zellplasma ein Netz, in dessen Maschen Granula eingeschlossen sind. Die Kerne der Hüllzellen ähneln sehr den Kernen der Kanalzellen. Maziarski (1903) nimmt auf Grund der beschriebenen Strukturen an, daß die Hüllzellen nicht einfach als Bindegewebszellen aufgefaßt werden dürfen, sondern sicher am Exkretionsgeschehen beteiligte, aktive Elemente sind.

Auf den elektronenmikroskopischen Schnitten durch die „Schleifen" erkennt man nur selten Zellgrenzen zwischen Hüllzellen, da deren Innenraum meist mit einer großen Zahl von Membranen angefüllt ist, von denen die Zellgrenzen bei niedriger Vergrößerung, bei der man sich Gebiete des Schnittes für höher auflösende Aufnahmen heraussucht, schlecht zu unterscheiden sind. In der Nähe der Ampulle gibt es Hüllzellen, bei denen Membranstrukturen nur an dem Zellpol auftreten, der dem Zilienkanal zugewandt ist. Infolgedessen kann man hier Zellgrenzen besser erkennen. Nach diesen Aufnahmen bilden die Mantelzellen, wie in Abb. 3 eingetragen, eine Hülle um den Zilienkanal. Außerdem treten an anderen Stellen, wie seitlich vom Schleifenkanal (Abb. 3), Hüllzellen auf. Es läßt

sich nicht genau angeben, ob die Hülle wie in Abb. 3 angegeben, wirklich nur eine Zelle dick ist, wahrscheinlich treten gelegentlich noch weitere Zellen auf, so daß die Scheide an einigen Stellen mehrere Zellen dick sein mag. In Abb. 4 ist keine Zellgrenze eingetragen, da die Anzahl der Zellen in diesem Teil der „Schleife" nicht ermittelt werden konnte. Auch in dieser Region ist der in der Mitte des „Schleifengewebes" befindliche Kanalabschnitt (Bläschenkanal) vollständig von Hüllzellen eingeschlossen.

In der „kleinen Schleife" ist nur der Bläschenkanal von Mantelzellen umgeben. Die beiden Schenkel des Schleifenkanals sind nie ganz eingeschlossen, sondern berühren an einer Stelle immer das Cölomepithel oder den entgegenkommenden Schenkel.

Es wurden im ganzen in den Hüllzellen 5 Kerne angeschnitten. Alle hatten eine sehr unregelmäßige Gestalt. Bei einem Kern waren die Einbuchtungen so groß, daß im Schnittbild drei Teile anstelle eines Kernes auftraten.. Der Inhalt der Kerne ist nach Fixierung mit Osmiumsäure granulär. Besonders in der Nähe der Kernmembran, teilweise auch in der Mitte, tritt eine kontrastreiche Fleckung auf. Diese ist jedoch nie so deutlich, wie in den später zu beschreibenden Kernen des Cölomepithels (s. S. 246). In keinem Fall wurde ein Nukleolus beobachtet. Dies steht im Gegensatz zu den Befunden aus lichtmikroskopischen Bearbeitungen. Es ist möglich, daß mit meinen Schnitten gerade kein Nukleolus in den Kernen angeschnitten worden ist, obwohl er vorhanden war.

Außer den Kernen fallen in den Hüllzellen nur zwei Strukturen auf, eine verwirrende Menge von Membranstrukturen und eine große Zahl Mitochondrien.

Bei mit Osmiumsäure fixierten Nephridien erscheint das Plasma der Zelle auf ein Netzwerk reduziert (Abb. 7 b). Die „Maschen" dieses Netzwerkes bilden elektronenmikroskopisch leere Räume sehr variabler Gestalt. Bei mit Permanganat fixierten Objekten sieht man ein völlig anderes Bild. Wie in anderen Zellen wird der größte Raum innerhalb der Zelle von körnigem Plasma eingenommen, in dem viele Mitochondrien liegen. Zwischen diesen sieht man Doppelmembranen, die an beiden Enden geschlossen sind (Abb. 7 a). Der Raum zwischen diesen Doppelmembranen müßte den „Maschen" innerhalb des Netzwerkes, das man nach Fixierung mit Osmiumsäure beobachtet, entsprechen. Ein ähnliches von der Fixierung abhängiges Verhalten wurde bereits bei den basalen Zellwandeinfaltungen der Stäbchenkanalzellen (s. S. 234) beschrieben. Nach

der Fixierung mit Permanganat legen sich dort die einzelnen Membranen einer Zellwandeinfaltung an vielen Stellen eng aneinander, so daß Doppelmembranen entstehen. Der Zwischenraum zwischen den beiden Membranen entspricht dem extrazellulären Raum. Bei mit Osmiumsäure fixierten Objekten sind die beiden Membranen einer Einstülpung teilweise weit auseinandergedrängt, so daß der Raum innerhalb der basalen Plasmalamelle stark verkleinert ist.

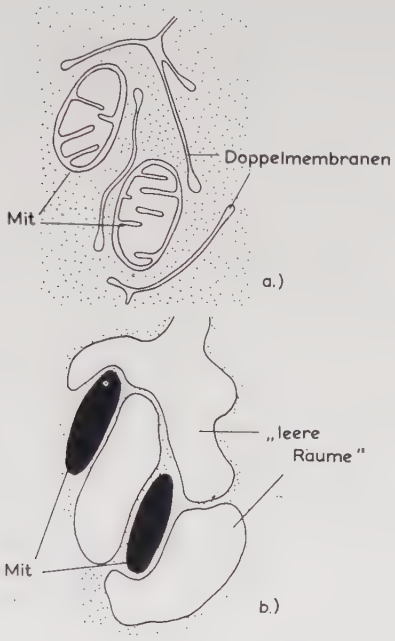


Abb. 7. Schema zum Erscheinungsbild des Plasmas der Hüllzellen nach Fixierung mit Permanganat (a)) und mit Osmiumsäure (b)). Mit = Mitochondrien. Nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Das Bild der Hüllzellen nach der Fixierung mit Permanganat entspricht eher der Vorstellung vom Aufbau einer Zelle als die Aufnahmen der mit Osmiumsäure fixierten Nephridien. In einer Hinsicht sind die Bilder nach Fixierung mit Permanganat jedoch unbefriedigend. Die Mitochondrien sind im Vergleich zu mit Osmiumsäure fixierten Mitochondrien im Nephridium und zu denen, die man in der Literatur abgebildet findet, stark gequollen. Bereits L u f t (1956), der die Permanganat-Fixierung in die elektronen-

mikroskopische Methodik einführte, weist darauf hin, daß Mitochondrien nach dieser Fixierung häufig quellen. Selbst nach Zugabe von 0,9 % Kochsalz zur gepufferten Permanganat-Lösung erschienen die Mitochondrien der Hüllzellen vielfach unförmig und die Innenstrukturen zerbrochen. Man kann sich vorstellen, daß durch die starke Volumenvergrößerung der Mitochondrien und vielleicht durch zusätzliche Quellungen im Plasma ursprünglich erweiterte Räume zusammengedrängt werden und dann als Doppelmembranen erscheinen. Neben dieser Abhängigkeit von der Fixierung wechselt das Bild vermutlich auch mit dem „physiologischen Zustand". Es wurde hierauf bereits im Zusammenhang mit der Besprechung der Strukturen eingegangen, die in Nephridien mit Bakterien in Kanalabschnitten unterhalb der Ampulle auftreten (s. S. 240).

Es ist natürlich nicht möglich sichere Schlüsse vom fixierten Objekt auf die lebende Zelle zu ziehen. Man kann sich jedoch Gedanken darüber machen, welches Erscheinungsbild man für wahrscheinlicher halten will. Das Bild nach der Fixierung mit Osmiumsäure entspricht sicher nicht dem natürlichen Zustand, da man sich schlecht Zellen vorstellen kann, die praktisch nur aus einem Gitterwerk von wenigen hundert Ångström-Einheiten dicken Plasmalamellen besteht. Die Aufnahmen nach Fixierung mit Permanganat hält man nicht für zutreffend, weil es Anzeichen für Quellungen von Plasmabestandteilen gibt. Im Leben liegt wahrscheinlich ein Zustand vor, der zwischen diesen beiden Extremen liegt und außerdem nicht starr ist, sondern ständig wechselt.

Bei allen Membranstrukturen muß man sich fragen, ob diese Membranen als intrazelluläre Strukturen oder als Einstülpungen der äußeren Zellmembran zu verstehen sind. Im ersten Fall wären die Räume zwischen den Membranen intrazelluläre Vakuolen, im zweiten entsprächen sie dem extrazellulären Raum. Außerdem muß geklärt werden, ob die beobachteten Räume untereinander in Verbindung stehen, also ein zusammenhängendes Hohlraumsystem durch die Zelle bilden, oder ob sie isoliert auftretende Bildungen sind.

Zur Beantwortung dieser Frage erscheint mir ein Teil des Nephridiums besonders geeignet, in dem die Membranen der Hüllzellen eine besondere Orientierung aufweisen, da hier die Verhältnisse besonders übersichtlich sind. Rings um den Zilienkanal, zwischen dem Wechsel der Kanalanordnung etwa auf der Hälfte der

„langen Schleife" und der Einmündung in die Ampulle, stehen die Membranen vorzugsweise senkrecht auf der Längsachse des Zilienkanals (Aufn. 8). An vielen Stellen (Pfeile) erkennt man, daß die Membranen als Einstülpungen der äußeren Zellwand aufzufassen sind. Zwischen den durch die Einfaltungen gebildeten Doppelmembranen sieht man rundliche Vakuolen und längliche Mitochondrien. Rund um den Bläschenkanal im zweiten Schenkel der „kurzen Schleife" sieht man gelegentlich eine ähnliche Anordnung der Membranen (Aufn. 1). Auch an anderen Stellen im Nephridium wurden Einfaltungen der Zellmembran der Hüllzellen beobachtet.

Ein Zusammenhang der einzelnen Räume zwischen den Membranen läßt sich ohne Serienschnitte nicht nachweisen. Man kann jedoch diesen Zusammenhang für wahrscheinlich halten, wenn man sich die Hohlräume durch Membraneinfaltungen entstanden denkt.

Nach diesen Betrachtungen nehme ich an, daß die Mantelzellen von einem lakunenartigen Hohlraumsystem durchzogen sind, das an mehreren Stellen mit dem extrazellulären Raum in Verbindung steht. An einigen Stellen, wie zum Beispiel in der Umgebung des letzten Abschnittes vom Zilienkanal, sind diese Verbindungsstellen besonders häufig.

Außer diesen Membranstrukturen enthalten die Hüllzellen eine große Zahl Mitochondrien. Besonders zahlreich, sehr groß und auffällig stäbchenförmig sind sie in dér Umgebung des letzten Teiles des Zilienkanals zwischen den durch Einfaltungen der Zellmembran gebildeten Doppelmembranen (Abb. 3). Es wurden hier Mitochondrien gesehen mit Längen bis über 4 μ und einer Dicke bis zu 1 μ. Die Mitochondrien in diesem Gebiet sind damit die größten, die im Nephridium auftreten. Wie in den Zellen der Ampulle und des Stäbchenkanals kann man auch hier sich vorstellen, daß die lichtmikroskopisch sichtbare Stäbchenstruktur in der Umgebung des letzten Zilienkanalabschnittes durch die Anordnung der Mitochondrien und Membranen hervorgerufen wird. Die Membranstrukturen und die dazwischen gelegenen Mitochondrien hat Maziarski (1903) wahrscheinlich bereits bemerkt, als er von Fibrillen schrieb, die ein Netz bilden, in dessen Maschen Granula eingelagert sind (s. S. 241).

b) Cölomzellen

Mit Ausnahme der Trichteröffnung ist an allen Stellen, an denen Teile des Nephridiums an die Cölomhöhle grenzen, ein Cö-

lomepithel ausgebildet. Außerdem bildet dieses Epithel, zusammen mit einer Schicht Interzellularsubstanz, die Aufhängesepten des Nephridiums. Das Cölomepithel setzt sich aus einer großen Zahl sehr flacher Zellen zusammen. Meist ist dieses Epithel einschichtig. Nur an den Stellen, an denen die Aufhängesepten an „Schleifen" befestigt sind, beobachtet man zuweilen eine größere Anzahl von Zellen, die nicht zu einem regelmäßigen Epithel angeordnet sind.

Bei der Endblase sind die Verhältnisse wegen des Auftretens von Muskelzellen unübersichtlicher als in anderen Teilen des Nephridiums. Es wurde bereits angegeben, daß man sich die Muskelzellen vielleicht als modifizierte Cölomzellen vorstellen kann (s. S. 237).

Vom übrigen Gewebe des Nephridiums sind die Cölomzellen immer durch eine Schicht Interzellularsubstanz abgetrennt.

Die Septen bestehen aus einer Doppellage Cölomzellen. Zwischen beiden Cölomzellenschichten befindet sich eine Schicht Interzellularsubstanz (s. S. 250 ff.).

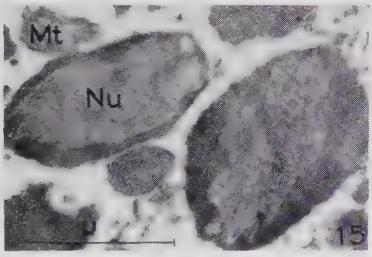
Kerne werden in den Cölomzellen häufig angeschnitten. Sie sind rundlich oder oval und kleiner als Kerne des Nephridialkanals. Sie enthalten fein granuläres Material und eine sehr kontrastreiche, grobe Fleckung. Auf Grund dieser auffälligen Fleckung kann man Kerne der Cölomzellen immer von denen der Hüllzellen und Kanalzellen leicht unterscheiden.

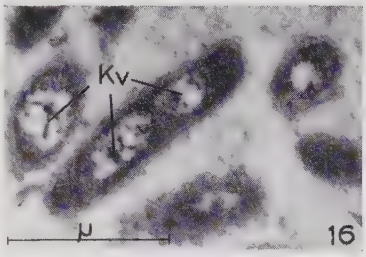
In den Zellen des Cölomepithels treten die bereits aus den meisten Zellen des Nephridiums bekannten grauen Einschlüsse auf. Daneben sieht man häufig in unmittelbarer Nähe des Cölomepithels auffallend eckige, kristallähnliche Körper. Es handelt sich bei diesen kristallähnlichen Gebilden um die in der lichtmikroskopischen Literatur bereits länger bekannten sogenannten „Bakteroide" (K. C. Schneider 1902). Sie liegen meist in Räumen, die von Cölomzellen umgeben sind, in Gruppen zusammen. Einige findet man einzeln zwischen Peritonealzellen und Interzellularsubstanz. Petzold (1959) berichtete von einer elektronenmikroskopisch sichtbaren Streifung der Bakteriode. Diese Streifung wurde von mir nur einmal beobachtet. Die Abstände der diagonal verlaufenden dunklen Linien betrugen ca. 100 Å. Petzold (1959) gibt 35—70 Å an. Butschowitz (1931, zitiert nach Petzold 1959) hält die Bakteriode wegen ihrer Färbbarkeit und der Löslichkeit in Pepsin-Salzsäure für Eiweißkristalle. Okada, Tagaki, und Su-

gino (1933, zitiert nach Petzold 1959) wiesen an ähnlichen Gebilden bei dem Cephalopoden *Watasenia scintillans* Berry nach, daß sie aus Eiweiß bestehen.

c) Amöboidzellen

Zwischen den Cölomzellen, die ein recht helles Plasma besitzen, sieht man Zellen mit auffallend dunklem Plasma und unregelmäßiger Gestalt (Aufn. 5). In größerer Zahl findet man diese Zellen an der Einmündungsstelle des Trichterhalses in die erste Schleife. In den übrigen Teilen des Nephridiums befinden sie sich meist in der Nähe der Blutgefäße. Es wurde keine dieser Zellen in der Nähe des Lumens des Nephridialkanals beobachtet. Nur am Anfang der „kurzen Schleife" treten sie an der basalen Zelloberfläche der Trichterhalszellen auf (Aufn. 5). Wegen der unregelmäßigen Gestalt und des wechselhaften Auftretens im Gewebe des Nephridiums halte ich diese Zellen für Amöboidzellen.





Aufn. 15. Schnitt durch Bakterien im Plasma einer Amöboidzelle, die außen an der „Großen Schleife" befestigt war. Mt = Mitochondrium der Amöboidzelle, Nu = Nukleoid eines Bakteriums, angefüllt mit fädigem Material. Fixierung 1, Einbettung 1.

Aufn. 16. Schnitt durch Bakterien im Lumen der Ampulle. Im Gegensatz zu den Bakterien in Amöboidzellen sind diese Bakterien in der Ampulle langgestreckte Gebilde, sie besitzen ein bis zwei „Kernvakuolen" (Kv). Um jedes Bakterium herum ist ein nach außen schlecht abzugrenzender Saum aus feinkörnigem Material ausgebildet. Fixierung 1, Einbettung 1.

Die Kerne der Amöboidzellen ähneln den Kernen der Cölomzellen in der kontrastreichen Fleckung des Innenraumes. Sie sind jedoch, genau wie das Plasma, sehr viel dunkler als Kerne der Cölomzellen.

Nach Rosen (1911) entstehen Amöbocyten („Lymphocyten") aus dem Peritonealepithel am Trichter und vielleicht auch an anderen Stellen. Amöbocyten sind im Cölomraum in großer Zahl vorhanden, sie dienen durch Aufnahme von Partikeln der Säuberung der Cölomhöhle (Kückenthal 1895, G. Schneider 1896, Cuénot 1898, Willem und Minne 1899/1900).

Die von mir im Nephridium beobachteten Amöbocyten enthalten selten Granula. Wenn diese vorhanden sind, dann sind es immer rundliche oder ovale schwarze Einschlußkörper mit Durchmessern zwischen 0,5 und 0,15 μ. Amöbocyten mit diesen Granula treten fast nur in der Nähe von Blutgefäßen auf.

Am Peritonealepithel in der Nähe der Ampulle waren in einigen Fällen Zellen befestigt, die Bakterien enthielten, wie ein Vergleich meiner Aufnahmen mit denen von Ryter, Kellenberger, Birch-Andersen, Maløe (1958) zeigt (Aufn. 15). Diese Bakterien sehen völlig anders aus, als die in der Ampulle. Die Bakterien in der Ampulle sind stäbchenförmig und enthalten meist zwei „Kernvakuolen" (Aufn. 16). Die in den eben erwähnten Zellen jedoch sind rundlich und besitzen anstelle der „Kernvakuolen" einen hellen Innenraum, in dem sich fädiges Material befindet. In elektronenmikroskopischen Arbeiten an Bakterien wurden ähnliche fädige Strukturen für DNS-Strukturen gehalten (Ryter, Kellenberger, Birch-Andersen und Maløe 1958, Piekarski und Giesbrecht 1956).

Es sind keine Anzeichen für einen Abbau der Bakterien durch die Amöboidzellen zu erkennen. Zwischen den Bakterien und dem Plasma der Amöboidzellen befindet sich allerdings keine Membran, es ist mir jedoch nicht möglich anzugeben, ob dies ein Zeichen für die beginnende Zersetzung ist. In der Umgebung der Mikroorganismen sieht man einige Mitochondrien.

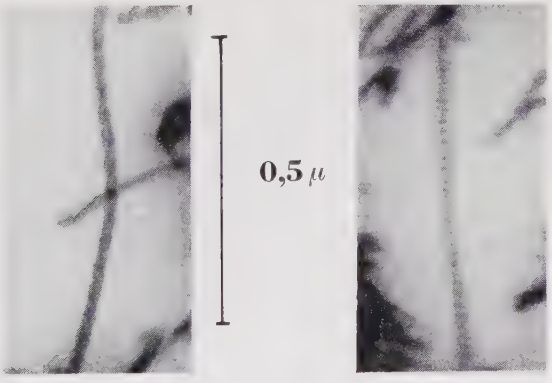
d) Die Interzellularsubstanz

In der Schilderung wurden bereits häufig Schichten einer Interzellularsubstanz erwähnt. Es soll zunächst diskutiert werden, als was man diese Schichten auffassen soll, und von welchen Zellen sie hervorgebracht werden.

Eine ähnliche Substanz wird bei Wirbeltieren von „Bindegewebszellen" hervorgebracht. Diese „Bindegewebszellen" können äußerst verschieden sein. Man rechnet zu ihnen lockeres Gewebe in drüsigen Organen, Sehnen, Knorpel, Fettgewebe und Lymphgewebe. Sogar die Pigmentzellen im Auge und das Endothel von Blutgefäßen bezeichnet man als „Bindegewebe" (Rauber-Kopsch 1955). Wie man sieht ist der Ausdruck „Bindegewebe" wenig spezifisch. Das einzige gemeinsame Merkmal ist, daß „Bindegewebe" vom mesodermalen Mesenchym abzuleiten ist.

Die zwischen den „Bindegewebszellen" gelegene Bindegewebssubstanz ist bei Wirbeltieren durch das Auftreten von Fibrillen ausgezeichnet. Man unterscheidet „weiße" oder „Kollagenfibrillen" und „gelbe" oder „elastische Fibrillen". Von diesen beiden Komponenten ist nur die Kollagenfibrille chemisch und durch ihre Feinstruktur gut definiert (Smith 1957, Kühn, Grassmann und Hofmann 1958). Die Kollagenfibrille besteht aus einem Bündel Elementarfibrillen, die je eine komplizierte Querstreifung aufweisen. Die auffälligsten Querstreifen haben einen Abstand von 640 Å.

Im Nephridium ist die Interzellularsubstanz überall unter dem Cölomepithel und als Umrandung der Kanalabschnitte ausgebildet. Über die Zellen, die diese Schichten hervorbringen, kann man nur Vermutungen äußern. Da diese Schichten konstant unter dem Cölomepithel auftreten, liegt die Vermutung nahe, daß die Cölomzellen die Interzellularsubstanz hervorbringen. Außerdem wurde diese Substanz aber auch als Umhüllung der Kanalabschnitte innerhalb der beiden ersten „Schleifen" beobachtet. Diese Umhüllung ist hier, außer bei den am Rande angeordneten Kanalabschnitten, immer diskontinuierlich. Es ist mir nicht möglich zu entscheiden, ob diese Schichten Interzellularsubstanz mitten im Gewebe der



Aufn. 17 a und b. Stärker vergrößerte Aufnahme der Elementarfibrillen der Interzellularsubstanz. Die eine Sorte Elementarfibrillen (17 a) hat eine Querstreifung im Abstand von ca 450 Å, da die Streifen etwas schräg verlaufen hat man den Eindruck, die Elementarfibrille sei tordiert. Die Zweite Sorte Elementarfibrillen (17 b) zeigt eine weit stärkere Unterteilung, die Abstände liegen teilweise unter 100 Å. Fixierung 2, Einbettung 1.

„Schleifen" von den Hüllzellen hervorgebracht werden, oder an anderer Stelle gebildet werden und im Laufe der Entwicklung hierher gelangen. Außerdem könnte man an die Amöboidzellen denken, die ja im Nephridium an den verschiedensten Stellen auftreten.

Wie die Bindegewebssubstanz bei Wirbeltieren besteht die Interzellularsubstanz im Nephridium aus einer Grundsubstanz und fibrillären Elementen. Man sieht jedoch keine Fibrillen, die laut Definition (s. S. 217) einen Durchmesser um 1 μ haben müßten, sondern fast ausschließlich nur einzelne Elementarfibrillen mit einem Durchmesser von 200 Å und dünner, die regellos die Grundsubstanz durchziehen. Nur in einem Fall wurden die Zusammenlagerungen zu höheren Einheiten mit einem Durchmesser von mehreren tausend Ångström-Einheiten beobachtet. Ein Teil der Elementarfibrillen hat eine Querstreifung im Abstand von ca 450 Å, andere hatten eine noch feinere Aufteilung (Aufn. 17 a + b). Es wurden Abstände unter 100 Å gemessen. Bei den Elementarfibrillen mit der gröberen Querstreifung hat man den Eindruck, als sei das ganze Gebilde tordiert (Aufn. 17 a). Die Streifung verläuft nicht rechtwinklig zur Längsrichtung der Elementarfibrille, sondern etwas schräg.

Die Struktur der Elementarfibrillen in der Interzellularsubstanz des Nephridiums stimmt mit der Feinstruktur der Kollagen-Elementarfibrillen insofern überein, als eine Querstreifung ausgebildet ist. Die Abstände der auffälligsten Querbanden betragen bei der Kollagen-Elementarfibrille um 640 Å, bei den Elementarfibrillen im Nephridium um 450 Å oder unter 100 Å. Smith (1957) erwähnt embryonales Bindegewebe mit Elementarfibrillen, die eine Querstreifung mit Hauptabständen von 220 Å und 70 Å besitzen. In dieser Größenordnung liegen auch die Maße der einen Sorte Elementarfibrillen aus dem Nephridium.

Nach diesen Betrachtungen erscheint es mir berechtigt, die Interzellularsubstanz als Bindegewebssubstanz aufzufassen.

Gegen das umgebende Gewebe ist die Bindegewebssubstanz durch eine unscharfe, aber meist deutlich sichtbare Membran abgegrenzt.

Ein Versuch, sich die Anordnung der Bindegewebssubstanz-Schichten aus der Entwicklung des Nephridiums verständlich zu machen.

Nach lichtmikroskopischer Betrachtung bestehen die Aufhängesepten des Nephridiums aus zwei Lagen Cölomepithel, zwischen

denen sich eine dünne, nichtzellige Schicht befindet. Auf elektronenmikroskopischen Bildern sieht man, daß die Zwischenschicht aus Bindegewebssubstanz besteht. Die Schicht ist nicht kontinuierlich, sondern es erscheinen auf Querschnitten „Inseln" Bindegewebssubstanz, zwischen denen sich die Cölomzellen beider Seiten berühren. An den Schleifen geht die Schicht Bindegewebssubstanz der

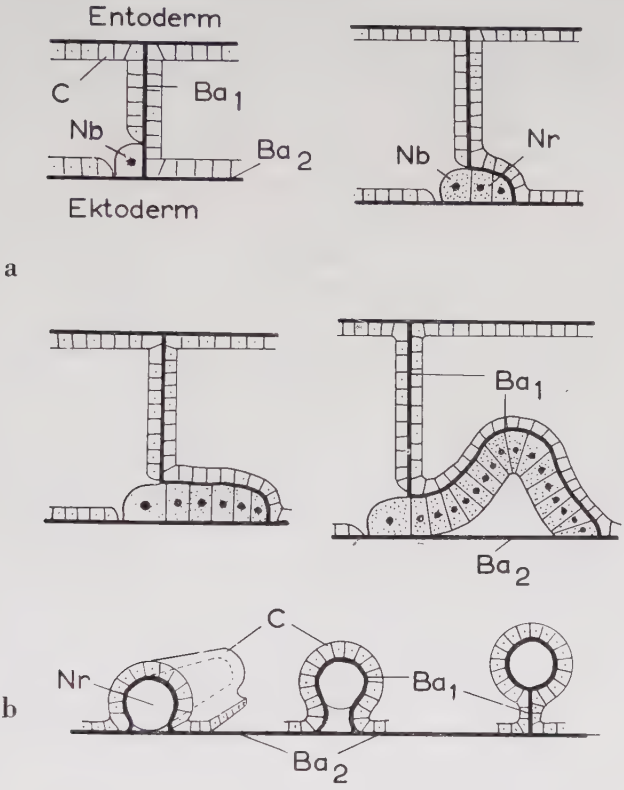


Abb. 8 a und b. Schemata zum Versuch, die Anordnung der Schichten Bindegewebssubstanz aus der Entwicklung des Nephridiums verständlich zu machen. C = Cölomepithel; Nb = Nephridioblast; Nr = Reihe von Nephridialzellen; Ba_1 = Basalmembran zwischen den beiden Cölomepithelien des Dissepimentes; Ba_2 = Basalmembran zwischen Cölomepithel und Ektoderm. Abb. 8 a nach Vandebrock (1934), schematisiert und verändert.

Septen in die kontinuierliche Umhüllung des „Schleifen"-Gewebes über. Die beiden Lagen Cölomepithel setzen sich in den Cölomzellen fort, die das gesamte Nephridium gegen die Cölomhöhle ab-

schließen. Es soll im folgenden versucht werden, diesen Aufbau aus der Entwicklung des Nephridiums verständlich zu machen.

In Abb. 8 a ist die Entwicklung des Nephridiums nach Zeichnungen von Vandebroek (1934) stark schematisiert dargestellt. In Abb. 8 a wird mit einem Stadium begonnen, bei dem die Cölomräume bereits deutlich sichtbar sind. Jede Cölomhöhle ist mit Cölomepithel ausgekleidet. Zwischen dem Cölomepithel und dem ektodermalen und entodermalen Material des Embryos und außerdem zwischen den beiden Cölomepithelien des Dissepimentes befindet sich eine interzelluläre Schicht, die Vandebroek (1934) Basalmembran nennt (Ba). In der hinteren, ventralen Ecke des in unserem Schema vorderen Cölomraumes ist der Nephridioblast eingezeichnet. Der Nephridialkanal entsteht aus einer Zellreihe (Nr.), die der Nephridioblast nach hinten abgibt. Diese Zellreihe schiebt sich auf der Basalmembran, die sich zwischen Cölomzellen und dem ektodermalen Material befindet (Ba_2) in das folgende Segment hinein. Dabei wird die Basalmembran des Dissepimentes (Ba_1) in das folgende Segment eingebuchtet. In Abb. 8 b, ist gezeigt, wie die bei Vandebroek (1934) auf Längsschnitten durch den Embryo gezeigte Anordnung von mir im Querschnitt verstanden wird. Im ersten Schema liegt die Reihe Nephridialzellen der Basalmembran Ba_2 dicht an. Die Reihe Nephridialzellen (Nr.) ist bedeckt von der Basalmembran des nach hinten ausgebuchteten Dissepimentes (Ba_1) und vom Cölomepithel (C). Später löst sich die Reihe der Nephridialzellen von der Basalmembran Ba_2 ab und faltet sich in den Cölomraum hinein (Abb. 8 a). Die Folge ist, daß, wie in Abb. 8 b gezeigt, die Basalmembran Ba_1 und das Cölomepithel mit in den Cölomraum hinein genommen werden. Man kann sich, wie im Schema gezeigt, vorstellen, daß die Basalmembran Ba_1 und die beiden Lagen des Cölomepithels sich unter den Nephridienzellen eng aneinanderlegen und damit ein Aufhängeseptum bilden.

Bereits mehrfach haben sich lichtmikroskopisch sichtbare Basalmembranen im Elektronenmikroskop als Lagen Interzellularsubstanz erwiesen (Pease 1858/60). Es liegt also nahe, anzunehmen, daß die von Vandebroek (1934) beschriebenen Basalmembranen und die von mir gesehenen Lagen Interzellularsubstanz identisch sind. Durch Vorgänge in der weiteren Entwicklung könnten die kontinuierlichen Basalmembranen zu im Schnitt diskontinuierlichen Schichten, wie sie aus den Aufhängesepten beschrieben

wurden, umgewandelt worden sein. Wie bereits erwähnt, ist es gut möglich, daß die im Schnitt erscheinenden isolierten „Inseln" Interzellularsubstanz in anderer Ebene als der des Schnittes untereinander verbunden sind, und man sich ein Gitterwerk aus Bindegewebssubstanz vorstellen muß.

Wie bereits angedeutet, bleibt es unklar, warum auch um die einzelnen Kanalabschnitte innerhalb der „kurzen" und der „langen Schleife" Hüllen aus Bindegewebssubstanz auftreten. Leider findet man keine Angaben über die Entstehung der Hüllzellen. Durch diese Schichten Interzellularsubstanz machen die beiden ersten Nephridien-„Schleifen" jedenfalls einen eigentümlich zusammengesetzten Eindruck.

e) Die Blutgefäße

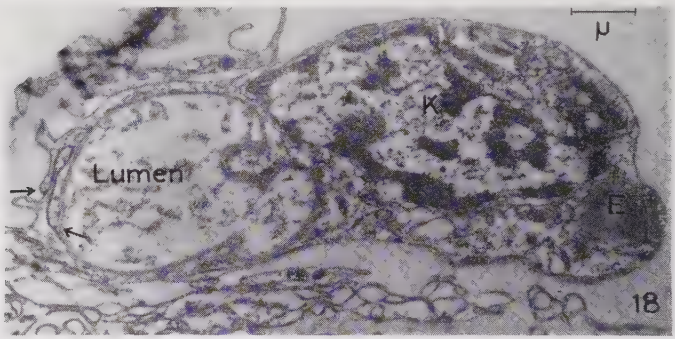
Die ersten beiden „Schleifen" des Nephridiums und der Stäbchenkanal besitzen eine große Zahl von Blutkapillaren. Der Anschluß dieser Gefäße an die übrigen Blutgefäße des Regenwurmes ist von B e n h a m (1891) und besonders F u c h s (1907) eingehend untersucht worden.

Die Feinstruktur der Gefäße erscheint besonders interessant im Hinblick auf den in einem Exkretionsorgan erwarteten regen Stoffaustausch zwischen dem Blut und dem Lumen des Exkretionskanals.

Am besten untersucht ist die Feinstruktur der Blutgefäße von Wirbeltieren, besonders von Säugetieren (B a r g m a n n 1958, B e n n e t, L u f t und H a m p t o n 1959). Die Gefäße bestehen aus einem inneren zelligen Rohr, umgeben von einer bindegewebigen Basalmembran. Außerhalb dieser Membran können Zellen verschiedener Anzahl, Funktion und Gestalt vorhanden sein. Die Kapillaren bestehen nur aus dem inneren zelligen Rohr und der umgebenden Basalmembran. Nach außen findet man die Zellen des Organs, in dem sich die Kapillare befindet. Das innere zellige Rohr ist demnach bei Wirbeltieren der Grundbestandteil aller Gefäße. Es wird „Endothel" genannt (K. C. S c h n e i d e r 1902). H a m a (1960) untersuchte die Feinstruktur des Dorsal-, Ventral- und Subneuralgefäßes des Regenwurmes *Eisenia foetida* S a v i g n y elektronenmikroskopisch. Der Grundbestandteil der Gefäße des Regenwurmes ist ein Rohr, das umgekehrt wie bei den Wirbeltierkapillaren i n n e n eine Basalmembran besitzt, die a u ß e n von einem Epithel umgeben ist. Will man sich bei der Benennung nach der Lage der Basalmembran richten, so entspricht das hier außerhalb der Basalmembran befindliche Epithel nicht dem Endothel der Wirbeltierkapillaren. Da aber genau wie das Endothel der Wirbeltierkapillaren das erwähnte Epithel bei den Kapillaren des Regenwurmes der Grundbestandteil aller Gefäße ist, der niemals fehlt, erscheint es sinnvoller, wie es H a m a (1960) vorschlägt, die zellige Umkleidung der Regenwurmkapillaren mit dem Endothel zu vergleichen. Man wird in dieser Ansicht durch die Beobachtungen von B e n n e t, L u f t und H a m p t o n (1959) bestärkt, daß gelegentlich auch bei Wirbeltieren eine innere Basalmembran vorkommt.

Im lichtmikroskopischen Schrifttum hat man als Kriterium für ein Endothel die Lage im Bezug auf die Basalmembran genommen. Da sich in der Blutflüssigkeit des Regenwurmes häufig Amöboidzellen befinden, die in vielen Fällen der Basalmembran dicht anliegen, findet man viele einander widersprechende Angaben über das Vorhandensein oder Fehlen eines Endothels.

Meine Beobachtungen an den Gefäßen des Nephridiums decken sich weitgehend mit den Angaben der kürzlich erschienenen Arbeit von H a m a (1960). Die am Nephridium angeschnittenen Gefäße haben sehr unterschiedliche Durchmesser. Häufig sieht man zwischen den beiden Schenkeln der „kurzen Schleife" ein großes Gefäß mit einem Durchmesser bis 20 μ. Nach den Beobachtungen am Totalpräparat kann es sich nur um das Ventroparietalgefäß handeln. Die kleinsten Kapillaren besaßen einen Durchmesser von nur 0,25 μ. Die großen Gefäße besitzen in ihrer Wandung Muskelfilamente und liegen immer nur am Rand der „Schleifen". Die kleineren haben keine Muskelfilamente und können weit in das Innere der „Schleifen" eindringen.



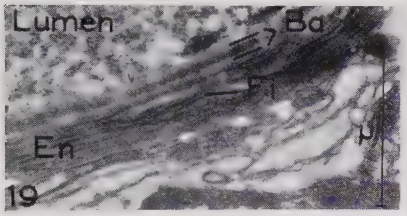
Aufn. 18. Querschnitt durch eine Blutkapillare. Das Gefäßlumen ist nur von einer einzigen Zelle umgeben, deren Arme sich auf der dem Kern (K) gegenüberliegenden Seite in Form einer „Lötstelle" (Pfeile) eng aneinanderlegen. E = grau erscheinender Einschlußkörper. Fixierung 1, Einbettung 1.

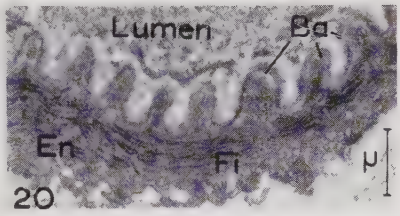
Bei einem Querschnitt durch ein großes Gefäß bekommt man in der Wand viele Anschnitte von Zellen, wodurch die Umhüllung der Gefäße stark zusammengesetzt wirkt. Es ist anzunehmen, daß die Endothelzellen viele Zellausläufer abgeben und diese sich eng um das durch die Basalmembran gebildete Rohr legen, ohne zwischen sich Lücken frei zu lassen.

Die kleinen Gefäße sind im Querschnitt oft nur von einer Zelle umgeben. Zwei vom kernhaltigen Teil der Zelle abgegebene Arme legen sich auf der dem Kern gegenüberliegenden Seite der Kapillare

eng aneinander, so daß das Bild einer Zellgrenze entsteht („Lötstelle") (Aufn. 18). Alle auf Querschnitten erkennbaren Zellgrenzen haben einen gewundenen Verlauf. An mehreren Stellen war das Endothel auffallend dünn. Dies beobachtet man nicht nur bei den kleinen, sondern auch bei größeren Gefäßen.

Die Kerne der Endothelzellen gleichen den Kernen des Cölomepithels. Wie in den Cölomzellenkernen beobachtet man eine sehr kontrastreiche Fleckung. Im Endothelzellenplasma der größeren Gefäße liegen eine Reihe Muskelfilamente. Bei einigen großen Gefäßen mit Muskelfilamenten in Endothel ist die Gefäßwand in das Lumen hinein eingefaltet (Aufn. 20). Man könnte dieses Bild auf eine Kontraktion der Wandung beziehen. Es ist dann allerdings unerwartet, daß die Gefäßwand nicht elastisch ist, sondern bei der Verengung des Lumens in dieses hinein eingefaltet wird.





Aufn. 19. Schnitt durch die Wandung eines größeren Gefäßes. Das Gefäßlumen ist mit einer großen Zahl feiner Partikel angefüllt; die für Abbildungen einzelner Hämoglobin-Moleküle gehalten werden. Im Plasma der Endothelzellen (En) liegen Muskelfilamente (Fi). Die Basalmembran (Ba) ist eine sehr unscharfe Struktur. Fixierung 2, Einbettung 1.

Aufn. 20. Schnitt durch die Wand eines größeren Gefäßes, bei dem das Endothel (En) in das Gefäßlumen hinein eingefaltet ist. Ba = Basalmembran. Fixierung 2, Einbettung 1.

In den Gefäßen sieht man in 130—300 Å Entfernung von der Endothelzellwand eine Basalmembran. Die Dicke dieser Membran ist schwer anzugeben, da die Begrenzung zum Blutplasma undeutlich ist.

Im Lumen der Gefäße fallen eine große Zahl eckig wirkender Partikel mit einem Durchmesser zwischen 170 und 220 Å auf. Der respiratorische Farbstoff des Regenwurmes ist Hämoglobin. Dieser Farbstoff liegt gelöst vor und besitzt wie alle im Blut gelösten respiratorischen Farbstoffe ein hohes Molekulargewicht (2 730 000, Svedberg und Erikson 1933). Svedberg und Erikson (1933) ermittelten aus der Sedimentationsgeschwindigkeit die Größe und Gestalt der Moleküle dieses Farbstoffes. Das einzelne Molekül

weicht nach dieser Untersuchung wenig von der sphärischen Gestalt ab und hat einen Durchmesser von 186 Å. Vergleicht man diesen Zahlenwert mit der Größe der oben erwähnten Partikel im Lumen der Gefäße, so kommt man wie H a m a (1960) zu dem Schluß, daß die beobachteten Partikel einzelne Moleküle des roten Blutfarbstoffes Hämoglobin sind.

Außer dem Blutplasma enthalten die Gefäße häufig kleinere Amöbocyten. Diese liegen meist mit dünnen Zellausläufern dicht an der Wandung der Gefäße. In einigen Fällen traten sie in so großer Zahl auf, daß Kapillaren vollständig verstopft erschienen.

In der lichtmikroskopischen Literatur über die Blutgefäße des Nephridiums findet man häufig den Hinweis auf Verdickungen der Gefäße, die „Blutampullen" genannt wurden. Bei den zahlreichen Anschnitten von Gefäßen, die von mir im Elektronenmikroskop beobachtet wurden, sind sicher auch „Blutampullen" dabeigewesen, ohne daß sie jedoch als solche identifiziert wurden. An keinem Gefäß und so auch an den sicher mit untersuchten Blutampullen sind mir Besonderheiten aufgefallen, die über das eben Geschilderte hinausgehen.

f) Zilien

Zilien treten an mehreren Stellen im Nephridium auf. Die Oberlippe des Trichters ist stark bewimpert, der Trichterhals trägt Zilien, an zwei Stellen ist der Schleifenkanal bewimpert, und der Zilienkanal zeigt in seinem ganzen Verlauf Wimpern.

An allen Stellen, an denen Zilien im Nephridialkanal auftreten, sind diese in zwei einander gegenüberstehenden Reihen angeordnet, die in der Längsrichtung des Kanals spiralig verlaufen. Beim lebenden Organ entsteht durch das koordinierte Schlagen dieser Zilien das schon häufig beschriebene Bild einer sich im Kanal bewegenden Schraube.

Die Feinstruktur von Zilien und Geißeln ist recht gut bekannt. Alle bisher untersuchten Undulipodien sind nach dem gleichen Prinzip aufgebaut (s. F a w c e t t 1958). Es sind tubuläre Gebilde, deren äußere Membran kontinuierlich in die apikale Zellmembran übergeht. Innen befinden sich parallel zur Längsachse des Gebildes ausgerichtete Filamente in ganz bestimmter Anordnung. Sie bilden auf Querschnitten einen äußeren Ring von 9 Doppelfilamenten, der zwei einzelne zentral gelegene Filamente einschließt. Bei Geißeln der Säugerspermien beobachtet man außer diesen 18+2 Filamenten noch einen äußeren Kranz von 9 weiteren Filamenten. Diese scheinen um die inneren Filamente eine Spirale zu bilden.

Die Zilien entspringen einem „Basalkörper" im apikalen Plasma der Zelle. An dem „Basalkörper" sind verschieden große Mengen von „Wurzelfasern" befestigt. Im Lichtmikroskop erscheinen „Basalkörper" als dunkle Granula, im Elektronenmikroskop nach Fixierung mit Osmiumsäure als Körper mit dunkler Wand und auffallend hellem Innenraum. Bei einigen Tieren stehen die Filamente

der Zilie mit der Wandung des Basalkörpers direkt in Verbindung (Kümmel 1958, 1959; Fawcett 1958), bei anderen enden sie oberhalb des Basalkörpers in einer horizontalen Platte, so daß die Filamente durch keine elektronenoptisch sichtbare Struktur mit dem Basalkörper verbunden sind (Fawcett 1958). Die Wurzelfasern haben eine Querstreifung im Abstand von 600—700 Å. In einigen Fällen wurde mit höherer Auflösung eine kompliziertere Unterteilung beobachtet (Fawcett 1958).

Die meisten meiner Aufnahmen vom Nephridialkanal des Regenwurmes sind an Querschnitten aufgenommen worden. Auf diesen Bildern sind Zilien fast ausschließlich quer getroffen worden, so daß es schwierig ist, ein räumliches Schema zu entwerfen. Es soll deshalb hier der Aufbau der Zilien am Nephrostom und am Anfang

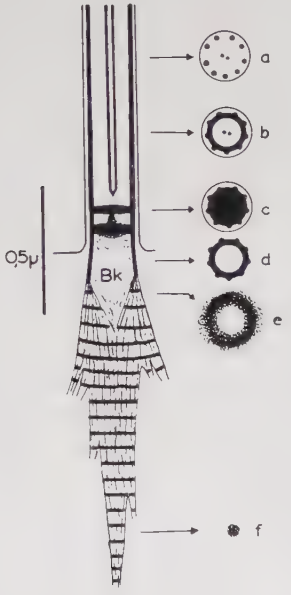


Abb. 9. Schema zur Feinstruktur der Wurzelregion von Zilien des Nephridiums. Bk = Basalkörper; a—f = Querschnitte durch eine Zilie in der durch Pfeile angegebene Höhe. Nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

des Trichterhalses geschildert werden, da aus diesen Regionen auch eine Reihe von Längsschnitten vorliegen. Anschließend werden die Querschnitte aus diesem Gebiet mit denen aus anderen Kanalabschnitten verglichen, um zu sehen, ob sich der Aufbau der Zilien unterscheidet.

Die Ergebnisse über die Feinstruktur der Zilien im Nephridium sind in Abb. 9 zusammengefaßt. Die aus der Zelle hervorragenden Teile der Zilie zeigen den aus vielen Untersuchungen anderer Zilien bekannten Aufbau. In einem Rohr, dessen Wand kontinuier-

lich in die apikale Zellmembran übergeht, sind in charakteristischer Weise 9 periphere Filamente um zwei zentrale angeordnet. Auf meinen Aufnahmen erscheinen die 9 peripheren nicht als Doppelfilamente, dies wird aber wohl an der niedrigen Auflösung der benutzten Methodik liegen. Die zentralen Filamente liegen nahe beieinander. Ein Stück über der Zelloberfläche verschmelzen die peripheren Filamente zu einem Rohr, das im Querschnitt an ein Zahnrad erinnert (Abb. 9). Etwas tiefer befindet sich eine horizontale Platte, die das gebildete Rohr nach unten abschließt. Es ist mir nicht gelungen festzustellen, ob die beiden zentralen Filamente in diese Platte einmünden, oder bereits kurz darüber enden. Auf den meisten Aufnahmen sieht man zwischen der Platte und dem Ende der zentralen Filamente keine Verbindungslinie. Die beiden zentralen Filamente scheinen kurz vor ihrem Ende zu verschmelzen. Auf Querschnitten sieht man dann nur ein zentrales Filament. Das aus den periphereren Filamenten gebildete Rohr setzt sich unter der horizontalen Platte fort und umschließt einen Raum mit auffallend heller Mitte, der nach F a w c e t t (1958) dem lichtmikroskopisch sichtbaren „Basalkörper" entspricht. Nach unten wird dieser Raum von einer großen Menge quergestreiften Materials abgegrenzt. Dieses Material gibt eine Reihe von Wurzelfasern ab, die ebenfalls quergestreift sind. Die Streifen haben einen Abstand von etwa 650 Å. Diese Querstreifung erinnert, wie bereits F a w c e t t (1958) angibt an die der Kollagen-Elementfibrille, bei der die auffälligsten Streifen einen Abstand von 640 Å aufweisen. Da bisher Kollagen nicht in Zellen angetroffen wurde, nimmt F a w c e t t (1958) nicht an, daß es sich bei den Zilienwurzeln tatsächlich um Kollagen-Elementarfibrillen handelt. Unterhalb der horizontalen Platte sieht man auf Längsschnitten eine weitere unscharf begrenzte dickere Platte. Auf einigen Längsschnitten wirkt diese Platte wie ein Körper mit einem Durchmesser von knapp 2000 Å.

Die Feinstruktur der Zilien am Nephrostom von *Lumbricus terrestris* L. ist bereits einmal untersucht worden. Es erschien jedoch meines Wissens bisher nur ein kurzes Referat über einen Vortrag von B e a m s , T a h m i s i a n und D e v i n e (1957). Soweit es aus diesem Referat ersichtlich ist, stimmen meine Ergebnisse im wesentlichen mit diesen Befunden überein. In einem Punkt unterscheidet sich das von mir beschriebene Schema von der oben referierten Schilderung. Es wird von B e a m s , T a h m i s t a n und D e v i n e (1957) angegeben, daß der Basalkörper vollständig getrennt vom

übrigen Teil der Zilie ist. Bei allen meinen Längsschnitten ist die seitliche Wandung des Basalkörpers eine direkte Fortsetzung des durch den Zusammenschluß der peripheren Filamente gebildeten Rohres. Beim Querschnitt durch den Basalkörper erscheint wie beim Querschnitt oberhalb der horizontalen Platte ein zahnradähnliches Gebilde, das 9 „Zähne" besitzt, die sicher den 9 peripheren Filamenten entsprechen.

Nach Fawcett (1958) ist bei den Basalkörpern der Zilien einer Reihe von Tierformen eine Vertikalebene durch die Ausbildung eines spornähnlichen Gebildes besonders betont. Bei den Zilien im Nephridium wurde keine vergleichbare Struktur geschen. Der Basalkörper scheint im Bezug auf die Längsachse der Zilie rotationssymmetrisch ausgebildet zu sein.

Soweit man es auf Querschnitten entnehmen kann, besitzen die Zilien im Nephridialkanal die gleiche Struktur wie die eben beschriebenen Zilien am Nephridiostom und am Anfang des Trichterhalses. Man sieht jedoch immer nur eine weit geringere Menge des quergestreiften Materials. Dies scheint demnach am Trichter besonders stark ausgebildet zu sein. Es wurde nie eine Verbindung zwischen den Basalkörpern benachbarter Zilien und nie ein Zusammenhang der Wurzelstrukturen mit anderen fibrillären Strukturen, wie den in den Zellen des Nephridialkanals häufig auftretenden Bündeln von Elementarfibrillen, beobachtet.

g) Die Muskulatur in der Endblase

In der elektronenmikroskopischen Literatur findet man zwei Angaben über die Feinstruktur der Muskeln bei Regenwürmern. Hanson (1957) untersuchte die Längsmuskeln in der Körperwand von *Lumbricus terrestris* L. und Kawaguti und Ikemoto (1957) die gleiche Muskulatur bei *Pheretima communissima* und *Eisenia foetida* Savigny. Die beiden Untersuchungen führten zu einander widersprechenden Aussagen über die Anordnung der Muskelfilamente. Es war dies mit ein Grund, die Muskulatur aus der Wandung der Endblase etwas eingehender zu schildern. Die Ergebnisse sollen mit den Beobachtungen der erwähnten Autoren verglichen werden.

Die Einheit eines Muskels ist entweder eine einkernige Muskelzelle oder es sind mehrkernige Muskelfasern. Muskelzellen und Muskelfasern enthalten eine größere Zahl lichtmikroskopisch sichtbarer Muskelfibrillen, die nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen je aus einer größeren Zahl Muskelfilamenten bestehen.

Die Körpermuskulatur des Regenwurmes besteht aus einkernigen Muskelzellen, die „doppelt schräg gestreift" sind. Das Bild einer „doppelten Schrägstreifung" entsteht durch eine optische Täuschung bei der Untersuchung im Lichtmikroskop. In Wirklichkeit sind die Fibrillen in den Muskelzellen spiralig angeordnet (Hanson 1957).

Wie bei allen anderen Muskeln bestehen die Muskelfibrillen je aus einer großen Zahl Muskelfilamenten. Diese Filamente laufen nach Hanson (1957) in der Längsrichtung der Fibrillen. Zwischen den Gruppen Filamenten, die eine Fibrille aufbauen, beobachtete Hanson (1957) in Reihen angeordnete Strukturen. Bei Längsschnitten durch Muskelfibrillen erscheinen diese Strukturen je nach Schnittebene als zu den Fibrillen quer verlaufende Streifen oder als Partikel, die in Reihen in den Zwischenräumen der Fibrillen liegen. Hanson und Lowy (1960) nehmen an, daß diese Struktur dem „Sarcoplasmatischen Reticulum" im quergestreiften Wirbeltiermuskel entspricht. Das „Sarcoplasmatische Retulicum" ist ein System feiner Kanälchen, die von der Membran der Wirbeltiermuskelfaser aus zwischen die Muskelfibrillen führen und vielleicht für die Erregungsleitung von der Muskelmembran in die Tiefe des Muskels verantwortlich sind.

Kawaguti und Ikemoto (1957) kamen zu etwas anderen Ergebnissen. Die Filamente verlaufen nach dieser Auffassung nicht parallel zur Längsachse der Fibrillen, sondern schräg dazu. Zwischen den Fibrillen beobachten auch Kawaguti und Ikemoto (1957) in Reihen angeordnete Strukturen, die sie jedoch nicht wie Hanson und Lowy (1960) für Anschnitte eines Hohlraumsystems sondern für Partikel halten. Einige der schräg zur Längsachse der Fibrillen angeordneten Filamente überqueren den Raum zwischen zwei Muskelfibrillen und erreichen über eins der beschriebenen Partikel die Nachbarfibrille.

Die Muskelfilamente sind im Querschnitt rund. Ihr Durchmesser wird von Kawaguti und Ikemoto (1957) mit 100—150 Å, von Hanson (1957) mit 120—300 Å angegeben, wobei die meisten einen Durchmesser von 250 Å hatten.

Die Muskelelemente in der Wand der Endblase des Nephridiums sind längliche Gebilde. Gegen das umgebende Gewebe ist jede Muskeleinheit durch eine Zellmembran abgegrenzt. Es ist anzunehmen, daß jede Muskeleinheit einer Zelle entspricht, obwohl keine Kerne von mir gesehen wurden. Das Plasma der Muskelzelle ist auf einen schmalen Mantel um den mit Fibrillen gefüllten Innenraum der Zelle begrenzt. Man sieht hier auffallend wenige und kleine Mitochondrien. Jede Muskelzelle ist von einer großen Zahl vakuolenähnlicher Gebilde umgeben, die teilweise im Plasma liegen. teilweise aber auch nur durch die Ablösung der Zelle von der Membran der Nachbarzellen vorgetäuscht werden.

Mit dem Lichtmikroskop erkennt man im Innern eine Reihe von Fibrillen, die vorzugsweise in der Längsrichtung der Muskelzelle laufen. Da die Muskelzelle in der Wand der Endblase nicht gestreckt angeordnet ist, sondern gebogen und gewunden, kann ich nicht angeben, ob die Fibrillen in der Zelle schraubig oder gerade angeordnet sind.

Im elektronenmikroskopischen Bild sind bei einem Querschnitt durch die Zelle Muskelfilamente in regelmäßigen Blöcken ange-

ordnet (Abb. 10). Jeder Block entspricht nach Hanson (1957) dem Querschnitt durch eine Muskelfibrille. Räumlich muß man sich die Fibrillen als bandförmige Gebilde vorstellen, die längs (oder schräg) durch die Muskelzelle ziehen und in der Breite quer durch die Muskelzelle reichen. Von diesen „Bändern" ist eine große Zahl nebeneinander angeordnet.

Zwischen den Bändern aus Muskelfilamenten sieht man Schichten einer nichtfibrillären Struktur. Im Querschnitt durch die Zelle wirkt diese Struktur wie eine Aufreihung von Bläschen, die untereinander durch eine dunkle Linie verbunden sind. In seltenen Fällen sieht man, daß die Lumina der Bläschen miteinander in Verbindung stehen. Im Längsschnitt erscheinen zwischen den Fibrillen Reihen von Bläschen und dunklen Partikeln, die untereinander nicht verbunden sind (Aufn. 14). Die „Bläschen" und „Partikel" entsprechen sicher den quer geschnittenen Aufreihungen von Bläschen, die bei einem Querschnitt durch die Muskelzelle beobachtet werden (Abb. 10). Der Eindruck eines „Partikels" entsteht, wenn keine

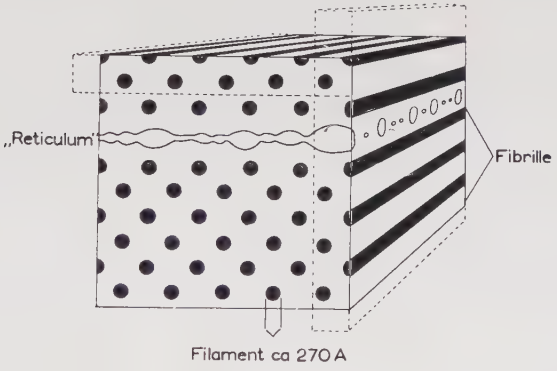


Abb. 10. Schematische Darstellung der Anordnung von Filamenten und nichtfibrillärer Struktur („Reticulum") in den Muskeln der Endblase des Nephridiums. Die gestrichelten Linien bezeichnen die mittlere Schnittdicke eines elektronenmikroskopischen Ultradünnschnittes. Nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Bläschen, sondern nur die Verbindungslinie zwischen zwei Bläschen getroffen ist. Die beschriebenen nichtfibrillären Strukturen erinnern, wie schon Hanson und Lowy (1960) angaben, an das „Sarcoplasmatische Reticulum" im quergestreiften Wirbeltiermuskel.

Unter meinen Untersuchungsbedingungen läßt sich bei den Muskelzellen der Endblase nicht sicher angeben, ob es sich wirklich um ein zusammenhängendes Hohlraumsystem handelt.

In Abb. 10 sind die geschilderten Strukturen in einem räumlichen Schema zusammengestellt. Es wurde nur ein Ausschnitt aus einer Zelle bezeichnet. Im Schema irritiert zunächst der große Abstand und die geringe Zahl der in einem Längsschnitt sichtbaren Filamente im Verhältnis zu der größeren Zahl, die man in den Aufnahmen sieht. Trägt man jedoch eine mittlere Schnittdicke von etwa 800 Å ein (gestrichelt), so verdoppelt sich die Zahl der sichtbaren Filamente infolge der großen Tiefenschärfe des Elektronenmikroskopes. Die Eintragung des „Sarcoplasmatischen Reticulums" als zusammenhängendes Hohlraumsystem ist, wie gesagt, eine Ausnahme.

h) Granula im Nephridium und „Chloragosomen"

Bei der Beschreibung der Feinstruktur des Nephridiums sind an mehreren Stellen Einschlüsse in den Zellen erwähnt worden. In allen Nephridien und in größerer Zahl treten folgende Einschlußkörper auf:

1. Graue Granula, die zum Plasma hin nicht durch eine Membran abgegrenzt sind. Man findet sie hauptsächlich in den Cölomzellen, daneben aber auch in allen anderen Zellen des Nephridiums.
2. Die kristallähnlichen Bakteroide, die man zwischen Cölomzellen findet.
3. Die Einschlußkörper der Zilienkanalzellen („Vakuolenartige Hohlräume").
4. Die Einschlußkörper der Ampulle.
5. Die dunklen Granula in den Amöboidzellen.

Die Bakteroide wurden bereits an anderer Stelle besprochen (s. S. 246). Die Bedeutung sämtlicher anderer Einschlüsse ist mir unklar. Gedanken zu den Einschlüssen der Zilienkanal- und Ampullenzellen werden auf den Seiten 279 f. und 280 f. geäußert.

Es liegt nahe, die Einschlußkörper des Nephridiums mit den Granula der Chloragogzellen („Chloragosomen") zu vergleichen, da früher verschiedentlich angegeben wurde, daß Chloragosomen am Exkretionsgeschehen beteiligt sind (Kückenthal 1885,

Cuénot 1898, Willem und Minne 1899/1900). Diese Behauptung steht im Gegensatz zu neueren biochemischen Befunden, nach denen die Chloragosomen vorwiegend aus gespeicherten Lipiden bestehen (Urich 1957, 1958, 1960, Roots 1957).

Für den Vergleich wurde ein Gewebestück aus der Wandung des Dorsointestinalgefäßes, das vom Dorsalgefäß über die Darmoberfläche zieht, in Permanganat fixiert und für die elektronenmikroskopische Betrachtung präpariert. Diese Fixierung wurde benutzt, da mir in einer anderen Arbeit (Semal van Gansen und Vandermeersche 1958), bei der Osmiumsäure benutzt wurde, das Plasma unbefriedigend fixiert erschien. Es waren zum Beispiel keine Mitochondrien sichtbar. Eine vollständig von Mitochondrien freie Zelle ist mir aus der Literatur sonst nicht bekannt.

Die Chloragosomen sind ovale Körper mit einer Größe bis zu $2{,}8 \times 1{,}4\ \mu$. Sie besitzen außen eine etwa 1500 Å breite, sehr dunkle Schicht und zeigen innen einen konzentrischen Schichtenbau. Es wechseln Ringe von lockerem und dichterem Material sich ab. Zwischen den Chloragosomen befinden sich Bläschen und etwa $1 \times 0{,}6\ \mu$ große Körper, die ich für Mitochondrien halte. Membranstrukturen sind in diesen Körpern allerdings nur sehr selten.

Im Nephridium wurde kein Einschlußkörper beobachtet, der Ähnlichkeit mit einem Chloragosom besaß. In einem Fall befand sich in einer Amöbocyte ein Chloragosom. Drei Stunden vor dem Fixieren dieses Objektes wurde an dem Regenwurm eine Injektion in die Cölomhöhle vorgenommen, bei der sehr gut Chloragoggewebe verletzt worden sein kann, und die Chloragosomen in den Cölomraum gelangt sein könnten. Wie bereits geschildert, werden Fremdkörper im Cölomraum von den Amöbocyten schnell aufgenommen.

III. Vergleich der im Nephridium beobachteten Strukturen mit der Feinstruktur anderer Organe (und Gedanken über Vorgänge an diesen Strukturen)

1. Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen

a) Vergleich mit den bisher elektronenmikroskopisch untersuchten Organen

Zu den auffälligsten Strukturen im Nephridium gehören die beiden Oberflächendifferenzierungen Mikrovilli und basale Zell-

wandeinfaltungen. Wie in der Einleitung erwähnt, sind diese beiden Bildungen bereits aus einer großen Zahl von Exkretionsosrganen bekannt.

Dicht zu einem Bürstensaum zusammengedrängte Mikrovilli finden sich im ersten Abschnitt, dem „Hauptstück" oder „Proximalen Tubulus" des Säugernephrons, des Nephrons eines Reptils, der Nephrone der bisher daraufhin untersuchter Amphibien und des Nephrons des Selachiers *Sqalus acanthias* L., im obersten Abschnitt der Coxaldrüse eines Skorpions, im ersten Teil, dem sogenannten „Labyrinth" eines Flußkrebses (Autoren und nähere Angaben s. Tabelle 1). Die Zellen der ersten Abschnitte dieser Exkretionsorgane haben Einfaltungen der basalen Zellwand und enthalten in den durch diese Einfaltungen gebildeten Lamellen eine größere Zahl Mitochondrien.

Die Zellen des „Mittelstücks" oder des „Distalen Tubulus" der untersuchten Wirbeltiere, des zweiten, distalen Abschnittes der Coxaldrüse des Skorpions und des zweiten Abschnittes, des „Nephridialkanals" der Antennendrüse des Flußkrebses besitzen auf ihrer apikalen Oberfläche nur eine geringe Zahl einzeln stehender Mikrovilli. Die basale Oberfläche dieser Zellen ist jedoch weit stärker eingefaltet als die der Zellen des oberen Abschnittes und die basalen Lamellen enthalten eine weit größere Zahl Mitochondrien.

Im ersten Abschnitt der aglomerulären Nephrone des Meeresteleostiers *Lophius piscatorius* L. fehlen die basalen Zellwandeinfaltungen vollständig (s. R h o d i n 1958).

In den Malpighigefäßen der elektronenmikroskopisch untersuchten Insekten gibt es, mit Ausnahme der Zikade *Macrosteles fascifrons* S t å l, nur einen Zelltyp, bei dem man einen Stäbchensaum und basale Zellwandeinfaltungen beobachtet. Bei *Gryllus domesticus* L. scheint sich die Feinstruktur im Zusammenhang mit einem periodischen Wechsel der Funktion zu ändern. Es gibt hier Zellen mit Stäbchensaum und sehr intensiven basalen Zellwandeinfaltungen. Andere haben ebenfalls einen Stäbchensaum, aber nur schwach oder gar nicht ausgebildete Einfaltungen der basalen Zellmembran. Der erste Zelltyp zeigt Einschlüsse, die wahrscheinlich aus Harnsäure bestehen (B e r k a l o f f 1958/60, 1959).

Die Malpighigefäße der Zikade *Macrosteles fascifrons* S t å l zeigen die komplizierteste Feinstruktur aller bisher elektronenmikroskopisch untersuchten Exkretionsorgane (S m i t h und L i t t a u 1960). Der Kanal hat vier aufeinanderfolgende Abschnitte.

Die Region I hat Zellen mit Mikrovillisaum und basalen Plasmalamellen, gleicht also in der Feinstruktur anderen Malpighischen Gefäßen. Die Zellen der Region II und IV haben ebenfalls basale Membraneinfaltungen. Die apikale Zelloberfläche trägt nicht stäbchenförmige Ausstülpungen, sondern „Plasmablätter", die miteinander verzahnen. Ähnliche zytoplasmatische Lamellen tragen die Epithelzellen des Enddarmes. Hier sind in die einzelnen „Blätter" Mitochondrien eingelagert. Die Region III hat keine besonderen Oberflächendifferenzierungen.*

Tabelle 1

Elektronenmikroskopisch untersuchte Exkretionsorgane
(Mit Ausnahme der Malpighischen Körperchen von Wirbeltiernieren)

Tierform	Exkretitionsorgan Abschnitt	Autoren
Acranier		
Branchiostoma lanceolatum Pallas	Solenocyten	Brandenburg und Kümmel (1961)
Selachier		
Squalus acanthias L.	Nephron prox. Teil	s. Rhodin (1958)
Teleostier		
Lophius piscatorius L.	Nephron prox. Teil	s. Rhodin (1958)
Amphibien		
Rana pipiens Schreiber	Nephron: „Hals", Hauptstück, Überleitungsstck., Mittelstück	Fawcett (1954) Bargmann, Knoop u. Schiebler (1955)
Xenopus laevis Daud.		
Reptilien		
Phrynosoma cornutum (Harlan)	Nephron: Hauptstck., Überleitungsstck, Mittelstück	Anderson (1960)
Säugetiere	Hauptstück	Dalton, Kahler u. Lloyd (1951)
Maus	Hauptstück	Sjöstrand u. Rhodin (1953)
Maus	Hauptstück	Rhodin (1954, 57, 58)
Ratte	Hauptstück	Bargmann, Knoop, Schiebler (1955) Pease (1955, 1956)
Maus	Hauptstück	Miller u. Sitte (1956)
Maus	Hauptstück	Cark (1957)
	Hauptstück	Ruska, Moore u. Weinstock (1957)
Ratte	Hauptstück	Rollhäuser u. Vogell (1957)
Ratte	Hauptstück	Suzuki (1958)
	Überleitungsstück	Pease (1955)
Maus	Überleitungsstück	Rhodin (1958)
	Mittelstück	Pease (1955)
Maus	Mittelstück	Rhodin (1958)

* Zellen, die am apikalen Ende einen Stäbchensaum und am basalen Ende intensive Zellwandeinfaltungen besitzen, gibt es außerdem im Ausleitungskanal der „Niere" von Helix (Bouillon 1960). Beim Protonephridialkanal des Turbellars *Dugesia tigrina* wurden offenbar nur basale Zellwandeinfaltungen, aber kein Mikrovillisaum beobachtet (Wetzel 1962).

Elektronenmikroskopisch untersuchte Exkretionsorgane
(Mit Ausnahme der Malpighischen Körperchen von Wirbeltiernieren)

Tierform	Exkretionsorgan Abschnitt	Autoren
Maus	Sammelrohr (oberster Teil)	Clark (1957)
Maus		Rhodin (1958)
Arthropoden		
Skorpion	Coxaldrüse (ohne Cölomsäckchen)	Rasmont, Vandermeersche u. Castiaux (1958)
Cambarus	Antennendrüse (ohne Cölomsäckchen)	Anderson u. Beams (1956)
	Labyrinth	Beams, Anderson u. Press (1956)
	Nephridialkanal	
Insekten		
Melanoplus differentialis Thomas	Malpighigefäße	Beams, Tahmisian, Devine (1955)
Dytiscus L.	Malpighigefäße	Anderson u. Beams (1957)
Blatta orientalis L.	Malpighigefäße	Meyer (1957/58)
Carausius	Malpighigefäße	Meyer (1957/58)
Apis mellifica L.	Malpighigefäße	Meyer (1957/58)
Bombus lapidarius L.	Malpighigefäße	Meyer (1957/58)
Gryllus domesticus L.	Malpighigefäße	Berkaloff (1959, 60)
Macrosteles fascifrons Stål	Malpighigefäße	Smith u. Littau (1960)
Dissosteira carolina	Malpighigefäße	Tsubo u. Brandt (1962)
Rhodnius prolixus Stål	Malpighigefäße	Wigglesworth und Salpeter (1962)
Anneliden		
Glycera Savigny	Solenocyten	Brandenburg u. Kümmel (1961)
Mollusken	„Niere" und Ausleitungskanal	Bouillon (1960)
Helix		
Plathelminthes		
Trematoden		
Fasciola hepatica L.	Terminalorgan des Protonephridiums	Kümmel (1958, 1959)
Turbellarien	Terminalorgan des Protonephridiums	Kümmel (1962)
Stenostomum sp.		
Dugesia tigrina	Terminalorgan und Ausleitungskanal des Protonephridiums	Wetzel (1962)
Nemathelminthes	Terminalorgan des Protonephridiums	Brandenburg (1962)
Chaetonotus sp.		
Entoprocten	Terminalorgan des Protonephridiums	Kümmel (1962)
Urnatella		

In Abb. 11 wurde versucht, die Verteilung der Mikrovilli und basalen Zellwandeinfaltungen in den untersuchten Exkretionsorganen nach den Angaben der Autoren (s. Tabelle 1) schematisch zusammenzustellen.

In Abb. 12 ist die Verteilung der Mikrovilli und basalen Zellwandeinfaltungen im Nephridium von *Lumbricus* nach meinen

Untersuchungen zusammengefaßt. Einen ausgeprägten Stäbchensaum aus parallel angeordneten Mikrovilli findet man nur im zweiten Teil des Schleifenkanals. Im Zilienkanal gibt es zwar ebenfalls Mikrovilli, doch sind sie hier weniger regelmäßig angeordnet als im Schleifenkanal und ihre Zahl ist geringer. Basale Zellwandeinfaltungen besitzen die Zellen des letzten Abschnittes der Ampulle und in weit ausgeprägtem Maße die Zellen des Stäbchenkanals.

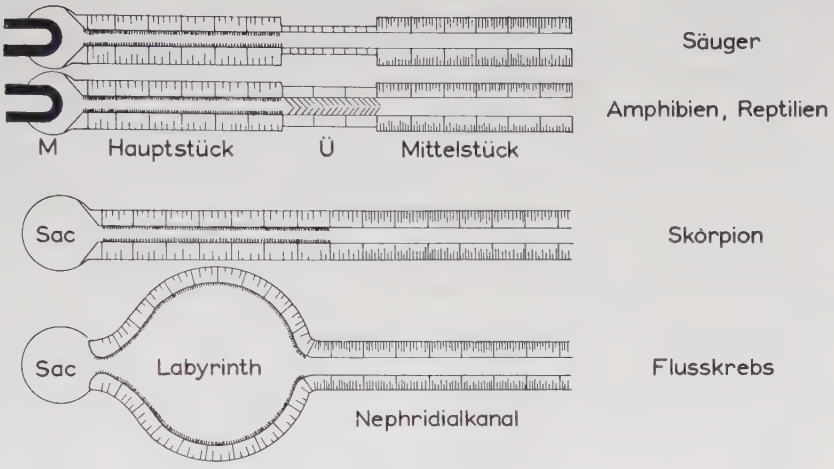


Abb. 11. Schema der Lokalisation von Mikrovilli, Zilien und basalen Zellwandeinfaltungen in verschiedenen Exkretionsorganen. Nach den Angaben der in Tab. 1 zusammengestellten Autoren. M = Malpighisches Körperchen; Ü = Überleitungsstück; Sac = Sacculus (Cölomrudiment). Es ist nicht beabsichtigt durch die Gegenüberstellung des Mapighischen Körperchens der Wirbeltiere und des Sacculus des Skorpions und des Flußkrebses auf einen funktionellen Zusammenhang zwischen diesen beiden Gebilden hinzuweisen. Das Labyrinth der Antennendrüse des Flußkrebses ist in Wirklichkeit kein einheitlicher Hohlraum, sondern ein schwammartiges Hohlraumsystem auf Grund einer großen Zahl von Einfaltungen der Wandung in das Lumen hinein. Untersucher s. Tab. 1.

Auch im Nephridium gibt es also einen proximalen Abschnitt (Schleifenkanal) mit Stäbchensaum und zwei Abschnitte mit basalen Zellwandeinfaltungen (Ampulle und Stäbchenkanal), von denen der zweite, mehr distal gelegene (Stäbchenkanal) eine weit intensivere Unterteilung des basalen Plasmas zeigt als der erste, mehr proximal gelegene (Ampulle). Wie bei anderen Exkretionsorganen befinden sich in den durch Zellwandeinfaltungen gebildeten Plasmaräumen Mitochondrien in Reihen angeordnet. Wie bei anderen Exkretionsorganen sind die Mitochondrien in dem mehr distal gelegenen Abschnitt (Stäbchenkanal) zahlreicher als im vorderen.

Außerdem kommen im Nephridium aber noch an einer dritten Stelle Einfaltungen der Zellwand vor, bei den Hüllzellen in der Umgebung des letzten Teiles vom Zilienkanal. Ein ähnliches Element wie die Hüllzellen, ist bisher in keinem elektronenmikroskopisch untersuchten Exkretionsorgan beobachtet worden.

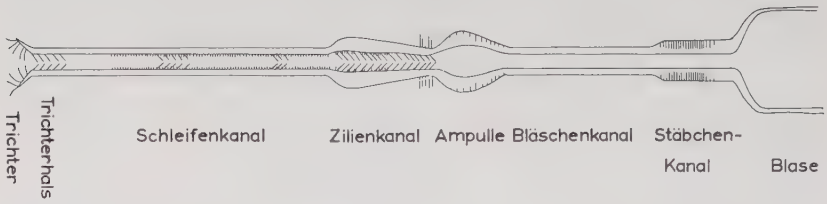


Abb. 12. Verteilung der Mikrovilli, Zilien und basalen Zellwandeinfaltungen im Nephridium des Regenwurmes, schematisch. Der Kanal ist in gestreckter Anordnung gezeichnet, die Hüll- und Cölomzellen sind fortgelassen, lediglich in der Umgebung des letzten Teiles des Zilienkanals sind die Membranstrukturen der Hüllzellen angedeutet. Nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Auffallend ist, daß im Nephridium an keiner Stelle Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen z u s a m m e n in e i n e r Zelle vorkommen. Es gibt also im Nephridium keine Zelle, die den Zellen im proximalen Abschnitt der Coxaldrüse des Skorpions, im proximalen Abschnitt (Labyrinth) der Antennendrüse des Flußkrebses und in mehreren Malpighigefäßen von Insekten in Bezug auf Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen gleicht.

Baueigentümlichkeiten, die in mehreren Tiergruppen in der gleichen Form auftreten, kann man auf dreierlei Art auffassen: Man kann erstens annehmen, die Organe, bei denen die Übereinstimmungen beobachtet werden, seien im Laufe der phylogenetischen Entwicklung auseinander hervorgegangen und zeigen deshalb ähnliche Feinstrukturen. Zweitens kann man annehmen, daß die Strukturen nicht voneinander abzuleiten sind, sondern als morphologische Ausprägung von Prozessen, die an der betreffenden Stelle ablaufen, aufzufassen sind, also konvergent sind. Die dritte Denkmöglichkeit, daß die beschriebenen Strukturen an mehreren Stellen rein zufällig auftreten, kann man hier wohl ausschließen, da Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen bisher in allen elektronenmikroskopisch untersuchten Exkretionsorganen gesehen wurden.

Für die erste Annahme, daß die Verbreitung der Mikrovilli und Zellwandeinfaltungen phylogenetisch zu verstehen ist, sprechen Vermutungen über die Ableitung der Antennendrüse der Crustaceen, der Coxaldrüse von Spinnentieren und des Wirbeltiernephrons

vom Coelomoduct oder Nephridium der Anneliden (Goodrich 1945). Bei den Malpighigefäßen der Insekten hat sich bisher jedoch noch kein Zusammenhang mit anderen Exkretionsorganen nachweisen lassen. Wie später geschildert wird, kommen Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen nicht nur bei Exkretionsorganen vor, sondern in einer Fülle resorbierender und ausscheidender Gewebe, die sicher keinen phylogenetischen Zusammenhang mit Exkretionsorganen haben. Aus diesem Grunde erscheint es mir wahrscheinlich, daß das Auftreten von Mikrovilli und basalen Zellwandeinfaltungen kein Zeichen für phylogenetische Zusammenhänge ist. Im folgenden soll die zweite Möglichkeit, daß die diskutierten Strukturen als morphologische Ausprägung von Vorgängen aufzufassen sind, daß also die Organe, in denen die hier behandelten Strukturen auftreten, konvergent sind, ausführlicher diskutiert werden.

Am besten von allen elektronenmikroskopisch untersuchten Exkretionsorganen ist man über die Lokalisation von Vorgängen im Wirbeltiernephron orientiert. Im Glomerulus wird ein eiweißfreies Ultrafiltrat aus Blutkapillaren abgepreßt. Dieser „Primärharn" wird auf dem Wege durch das Nierenkanälchen durch Rückresorptions- und Sekretionsvorgänge weitgehend verändert, bevor er als definitiver Harn ausgeschieden wird. Im Hauptstück werden die geringen Mengen Eiweiß, die im Filtrat enthalten sind, und die im Primärharn vorhandene Glucose quantitativ resorbiert. Außerdem werden etwa $^4/_5$ der zur Hauptsache für den osmotischen Druck verantwortlichen anorganischen Ionen im Hauptstück rückresorbiert. Da gleichzeitig Wasser in das Blutgefäßsystem diffundiert, geschieht diese Rückresoption nicht gegen ein Konzentrationsgefälle, d. h. am Ende des proximalen Tubulus ist der Harn immer noch blutisotonisch. Durch die Hauptstückzellen werden außerdem vor allem körperfremde Substanzen aktiv in das Tubuluslumen ausgeschieden. Die Zellen des Hauptstückes haben demnach vielfältige Aufgaben. Sie können eine große Zahl chemisch sehr verschiedener Verbindungen aus dem Lumen des Tubulus in die Blutgefäße transportieren. Außerdem sind sie in der Lage, chemisch sehr verschiedenartige Verbindungen umgekehrt aus den Gefäßen in das Lumen zu transportieren (Smith 1951, 1956, Rein und Schneider 1956).

Im Mittelstück sind weit weniger Prozesse lokalisiert als im Hauptstück. Dieser Abschnitt dient vor allem der Regulation des Wasser- und Ionenhaushaltes. Beim Frosch wird der Harn im Mittelstück durch Entzug von Ionen verdünnt. Bei Säugern bestehen

neben der Rückresorption von Ionen Zusammenhänge mit der Rückresorption von Wasser (s. S. 286 f.).

Bei der Antennendrüse der Crustaceen ist die Frage, ob wie bei den Wirbeltieren ein Primärharn durch Filtration gebildet wird, nicht geklärt. Für die Annahme einer Filtration sprechen zum Beispiel Clearence-Versuche mit Inulin, dagegen der relativ geringe Blutdruck im „offenen" Gefäßsystem (s. Martin 1957).

Die Antennendrüse besteht aus dem Sacculus, dem Labyrinth und dem Nephridialkanal, der in die Blase führt. Bei Meeresdecapoden, die einen blutisotonischen Harn ausscheiden, ist der Nephridialkanal stark rückgebildet (Peters 1936, Martin 1957, 1958, Waterman 1960). Der Flußkrebs scheidet dagegen einen gegen die Blutflüssigkeit verdünnten Harn aus und besitzt einen langen Nephridialkanal (s. Abb. 11). Demnach scheint der Nephridialkanal für die Rückresorption von Ionen verantwortlich zu sein. Peters (1936) wies tatsächlich die Rückresorption von Chlorionen im Nephridialkanal nach.

Beim Hummer kann die Antennendrüse Glucose rückresorbieren. Da dieser Decapode nur einen stark reduzierten Nephridialkanal besitzt, muß man annehmen, daß die Glucoserückresorption im Labyrinth erfolgt. Im Labyrinth wird außerdem die Ausscheidung grünlicher Exkretprodukte beobachtet (s. Waterman 1960). Die Labyrinthzellen ähneln also nicht nur in ihrer Feinstruktur, sondern auch in dem Vermögen, Substanzen in zwei verschiedenen Richtungen zu transportieren, den Hauptstückzellen des Wirbeltiernephrons. Die Fähigkeit, Stoffe gegen ein steiles Konzentrationsgefälle zu transportieren, scheint sowohl in der Wirbeltierniere als auch in der Antennendrüse in einem mehr distalen Kanalabschnitt lokalisiert zu sein. Dieser „aktive Transport" erfordert Energie, die von den Zellen aufgewendet werden muß. Es ist bekannt, daß der größte Teil des energieliefernden, oxydativen Stoffwechsels der Zellen in den Mitochondrien abläuft (s. Green 1960). In diesem Zusammenhang ist sicher auch die größere Mitochondrienzahl im Mittelstück der Wirbeltiernephrone und im Nephridialkanal des Flußkrebses zu verstehen.

Nach Wigglesworth (s. Wigglesworth 1955) ist die Abscheidung des bei den Insekten wichtigsten stickstoffhaltigen Stoffwechselendproduktes Harnsäure bei Vertretern der Heteropterengattung *Rhodnius* mit Rückresorptionsvorgängen verbunden.

die an anderer Stelle als die Abscheidung vor sich gehen. Bei vielen Insekten wird Wasser im Malpighigefäß rückresorbiert. Häufig geschieht dies so stark, daß im Lumen des Organs Harnsäurekristalle ausfallen. Bei anderen Formen wird die größte Menge des Wassers erst im Enddarm resorbiert. Die Zellen gleichen also nicht nur in ihrer Struktur, sondern auch in dem Vermögen, Substanzen in zwei Richtungen zu transportieren, den Zellen im Hauptstück des Wirbeltiernephrons. Außerdem können sie jedoch Wasser gegen ein Konzentrationsgefälle rückresorbieren.

Vermutlich im Zusammenhang mit Vorgängen beim „aktiven Transport", vielleicht in Verbindung mit der Rückresorption von Glucose, findet man im Stäbchensaum des Säugernephrons ein phosphorsäureesterspaltendes Ferment, das wegen seiner optimalen Wirksamkeit in alkalischem Medium „alkalische Phosphatase" genannt wird (Longley und Fisher 1954, Wachstein 1955, Mölbert, Duspiva und v. Deimling 1960, a und b s. S. 277). Beers (1958) beobachtete dieses Ferment auch im Bürstensaum des Labyrinthes der Antennendrüse von *Cancer borealis*. Es ist interessant, daß bei einer Nemertine und einer Planarie ebenfalls in dem proximalen Abschnitt der Protonephridien „alkalische Phosphatase" nachgewiesen wurde (s. Martin 1958). Vielleicht ist demnach eine Unterteilung des Tubulus in mindestens zwei Abschnitte nicht nur auf die elektronenmikroskopisch untersuchten Formen (mit Ausnahme von Insekten) beschränkt.

Über die Vorgänge der Harnbildung im Nephridium des Regenwurmes weiß man bisher nur sehr wenig. Da die Metanephridien von *Lumbricus terrestris* L. mit einer mikroskopisch deutlich sichtbaren Öffnung im Cölomraum beginnen und Trichter und Trichterhals mit einer großen Zahl Zilien einen starken Flüssigkeitsstrom im Nephridialkanal hervorbringen, ist anzunehmen, daß der durch die Nephridien ausgeschiedene Harn zur Hauptsache modifizierte Cölomflüssigkeit darstellt. Über die Zusammensetzung der Cölomflüssigkeit ist bisher wenig bekannt. Roots (s. Prosser und Brown 1961) bestimmte die Konzentration einiger anorganischer Ionen bei *Lumbricus* und Bahl (1945, 47) einer ganzen Reihe von Stoffen bei *Pheretima*. Auffällig ist, daß nach Bahl (1945, 47) in der Cölomflüssigkeit bis auf geringe Mengen Eiweiß keine Nährstoffe vorkommen. Ähnliches fand Wilber (1948) bei einem Sipunculiden der Gattung *Phascolosoma* Leukart und dem Polychaeten *Amphitrite ornata* Scott und Strunk (1930, zitiert

nach Wilber 1948) bei einem Polychaeten der Gattung *Arenicola* Lamarck. Bei allen diesen Formen wurden nur geringe Mengen Glucose in der Cölomflüssigkeit festgestellt. Nach Wilber (1948) steigt die Glucose-Konzentration in der Cölomflüssigkeit der von ihm untersuchten Formen jedoch beträchtlich an, wenn man die Tiere auf +30° C erwärmt. Dies führt der Autor auf den Abbau von gespeichertem Glycogen zurück. Bereits Cuénot (1898) hat angegeben, daß Glykogen in großer Menge im Cölomepithel von Oligochaeten gespeichert werden kann.

Sowohl bei *Pheretima* (Bahl 1945, 47) als auch bei *Lumbricus terrestris* L. (Ramsay 1949/50) ist der ausgeschiedene Harn gegenüber der Cölom- und Blutflüssigkeit verdünnt. Ramsay (1949/50) gelang es, die Fähigkeit zur Herstellung eines verdünnten Harns näher zu lokalisieren. Er maß die Gefrierpunktserniedrigung der Flüssigkeit im Verlauf des Nephridialkanals und stellte fest, daß die Konzentration stark in der Ampulle und vielleicht etwas im Zilienkanal sank. In einem Schema wird im Stäbchenkanal ein weiterer Konzentrationsabfall eingezeichnet, der aber, vermutlich wegen der experimentellen Ungenauigkeiten, im Text nicht erwähnt wird.

In seinem Reichtum an basalen Zellmembraneinfaltungen und Mitochondrien ähnelt der Stäbchenkanal morphologisch dem Mittelstück des Wirbeltiernephrons. Als Arbeitshypothese für eine physiologische Untersuchung könnte man annehmen, daß im Stäbchenkanal die Fähigkeit zum Ionentransport gegen ein Konzentrationsgefälle lokalisiert ist. Im Widerspruch hierzu stehen die Befunde Ramsay's (1949/50), nach dessen Beobachtungen besonders die Ampulle zur Leistung osmotischer Arbeit befähigt ist. Der Autor hat jedoch bereits einschränkend angegeben, daß durch die Unterbrechung der Strömung im Nephridialkanal während des Experimentes in einem Teil des Tubulus mehr resorbiert worden sein könnte, als es normalerweise der Fall gewesen wäre. Der stärkste Abfall der Konzentration ist in der Untersuchung von Ramsay (1949/50) in der Ampulle zu beobachten. Wir haben gesehen, daß dieser Abschnitt mit den weniger intensiven Membraneinfaltungen dem Hauptstück des Wirbeltiernephron ähnelt. Das Hauptstück transportiert zwar den größten Teil der Ionen, aber nicht wie die Ampulle im Nephridium gegen ein Konzentrationsgefälle. Auf jeden Fall scheint es, als ob die Membraneinfaltungen und die Mitochondrienansammlungen mit dem Transport von Ionen in irgend

einem Zusammenhang stehen. An allen drei Stellen, an denen von Ramsay (1949/50) ein Abfall der Konzentration eingezeichnet wird, am Ende des Zilienkanals, in der Ampulle, und im Stäbchenkanal wurden von mir Membraneinfaltungen in Verbindung mit Mitochondrien beobachtet: In der Umgebung des letzten Abschnittes des Zilienkanals haben die Hüllzellen Membraneinfaltungen, im letzten Teil der Ampulle ist die basale Zellwand der Tubuluszellen eingefaltet, und der Stäbchenkanal zeigt diese Strukturen in besonders eindrucksvoller Form.

Einfaltungen der Zellmembran sind nicht nur aus Exkretionsorganen bekannt. Sie sind beschrieben worden im vermutlich die Augenkammerflüssigkeit sezernierenden Ciliarepithel im Auge des Kaninchens und der Ratte (Pease 1956, Holmberg 1957), im „Plexus chorioideus" im Gehirn der Ratte, der die Cerebrospinalflüssigkeit sezerniert und kontrolliert (Maxwell und Pease 1956, Pease 1956), in der Submaxillaris (Speicheldrüse) der Ratte (Pease 1956), der eccrinen Schweißdrüsen des Menschen (Kurosumi, Iijima und Kitamura 1958/60), im Epithel im Vorhof der Bogengänge der Ratte (Bairati und Jurato 1960), im Kiemenepithel des Barsches *Perca fluviatilis* L. und des Goldfisches *Carassius auratus* L., das unter anderem an der Regulation des Wasser- und Ionenhaushaltes beteiligt ist (Schulz 1958/60), in der Salzdrüse des Sturmvogels *Ocenodroma leucor hoa*, die NaCl sezerniert (Doyle s. Prosser u Brown 1961, Komnick 1961), in den Kalkdrüsen von *Eisenia foetida* (Semal van Gansen 1959) und in Darmepithelien einiger Insekten (Beams und Anderson 1957, Smith und Littau 1960), einer Muschel (Fawcett und Porter 1954) und des Spulwurmes *Ascaris suilla* (Bretschneider 1954). Beim Ciliarepithel, dem Plexus chorioideus und der Schweißdrüse sind die Mitochondrien allerdings nicht wie bei den Exkretionsorganen innerhalb der durch Membraneinfaltungen gebildeten Lamellen angeordnet. Wie man sieht, sind viele dieser Gewebe beteiligt am Transport von Ionen oder größeren Flüssigkeitsmengen. Es ist möglich, daß generell wie in der Wirbeltierniere (s. auch S. 286 f.) Wasser nur als Folge von Ionenwanderungen transportiert werden kann, doch ist diese Frage bisher noch nicht geklärt. Das Auftreten von Membraneinfaltungen besonders in der Salzdrüse eines Sturmvogels und im Kiemenepithel der genannten Teleostier scheint mir auch ohne die Annahme, daß Flüssigkeitstransport nur als Folge von Ionenbewe-

gungen auftritt, eine Stütze für die aufgestellte Hypothese zu sein, daß die Membraneinfaltungen und Mitochondrienansammlungen mit dem Transport von Ionen in einem allerdings noch nicht näher bekannten Zusammenhang stehen.

Nimmt man an, der Stäbchenkanal entspräche in seinen Funktionen dem Mittelstück im Wirbeltiernephron und dem Nephridialkanal in der Antennendrüse, dann wären die Prozesse, die im Hauptstück des Wirbeltiernephrons und im Labyrinth der Antennendrüse ablaufen vielleicht auf den Schleifenkanal, den Zilienkanal, die Ampulle und den Bläschenkanal verteilt.

Für eine Auseinanderlegung der aus dem Hauptstück des Wirbeltiernephrons und aus dem Labyrinth der Antennendrüse bekannten Vorgänge auf mehrere Abschnitte im Nephridium sprechen allerdings nur wenige Tatsachen aus der bisher nur ungenügend bekannten Physiologie des Nephridiums.

Die Hauptstückzellen im Wirbeltiernephron sind in der Lage, kolloide Farbstoffe aus dem Tubuluslumen aufzunehmen und zu speichern (Gérard und Cordier 1934). Im Nephridium vermag dies der Zilienkanal (G. Schneider 1896, Cuénot 1898, Willem und Minne 1899/1900, Cordier 1934). Dieser Tubulusabschnitt besitzt weder einen geordneten Mikrovillisaum noch Einfaltungen der basalen Zellmembran, hat also in der Feinstruktur keine Ähnlichkeit mit dem Hauptstück des Wirbeltiernephron.

Nach Pandazis (1931) soll Eiweiß in der Ampulle von den Bakterien gespalten und anschließend von den Tubuluszellen resorbiert werden. Die geringen Eiweißmengen, die im Wirbeltiernephron durch die Wandung der Glomeruluskapillaren gelangen, werden im ersten Teil des Hauptstückes resorbiert.

Falls in der Cölomflüssigkeit von *Lumbricus terrestris* L., im Gegensatz zur Cölomflüssigkeit von *Pheretima posthuma* Villant (Bahl 1945, 1947, s. S. 271), Glucose vorhanden sein sollte, sollte man auch eine Rückresorption von Glucose im Nephridium erwarten. Als Arbeitshypothese für die Lokalisation dieses Vorganges kann man, wie das folgende zeigt, die Glucoserückresorption im zweiten Teil des Schleifenkanals annehmen. Im Wirbeltiernephron und in der Antennendrüse ist dieser Vorgang in sehr weit vorn liegende Abschnitte gelegt, dies würde mit der Lage des Schleifenkanals im Verlauf des Nephridialkanals übereinstimmen. Es wurde

bereits angegeben (s. S. 271), daß man einen Zusammenhang zwischen der Verbreitung der „alkalischen Phosphatase" und der Resorption von Zuckern festgestellt hat und der alkalischen Phosphatase eine Aufgabe beim Zuckertransport zuschreibt. Im Darm (Bargmann 1959, Barrnet 1959) und im Hauptstück der Säugerniere (Longley und Fisher 1954, Wachstein 1955, Mölbert, Duspiva und v. Deimling 1960, s. auch S. 277) ist dieses Ferment in den Mikrovillisäumen lokalisiert und das Auftreten von Mikrovillisäumen ist ja sehr charakteristisch für den Schleifenkanal. Die Annahme einer Glucoserückresorption im Schleifenkanal ist allerdings ungenügend gestützt, da man bisher nicht weiß, ob Glucose in der Cölomflüssigkeit überhaupt vorkommt und keine genaueren Angaben über die Verteilung der „alkalischen Phosphatase" im Nephridium vorliegen. Auch hat sich die Beteiligung der Phosphatase am Transport von Zuckern bisher nicht beweisen lassen (s. Wilbrandt 1960).

b) Allgemeines über Mikrovilli und basale Zellwaneinfaltungen

Es wurde bereits erwähnt, daß Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen nicht nur in Exkretionsorganen beobachtet worden sind. Beispiele für das Auftreten basaler Zellwandeinfaltungen sind auf S. 273 zusammengestellt. Mikrovilli gibt es in sehr vielen Geweben, von denen hier einige Beispiele genannt werden sollen. Man fand diese Strukturen im Mitteldarm mehrerer Säugetiere (Granger und Baker 1950, Dalton, Kahler u. Lloyd 1951, Fawcett 1958), mehrerer Insekten (Beams u. Anderson 1957), der Muschel *Elliptio complanatus* (Fawcett und Porter 1954), in den Fundusdrüsen des Magens der Maus (Dalton, Kahler u. Lloyd 1951), der Ratte (Lawn 1960), der Katze, des Hundes und der Kröte *Bufo spinulosus* Wiegmann (Vial u. Orrego 1960), im Pharynx des Frosches *Rana pipiens* Schreber und des Molches *Triturus viridescens* Rafinesque (Fawcett u. Porter 1954), in der Leber von Säugern (Fawcett 1958), der Gallenblase der Maus (Ymada 1955), im Pankreas des Menschen (Ekholm u. Edlund 1959, Hirsch 1960), in der Schilddrüse der Maus (Ekholm u. Sjöstrand 1957), in der Nebenniere der Maus (Zelander 1959), im Oviduct der Maus, des Kaninchens, der Ratte, des Menschen, des Frosches *Rana*

pipiens Schreber (Nilsson 1957, 1958 b), in den ductuli efferentes des Nebenhodens des Meerschweinchens (Ladman u. Young 1958), in der Blase der Kröte *Bufo marinus* (L) (Pak Poy u. Bentley 1960), im Kiemenepithel der Muschel *Mya arenaria* (L.) (Fawcett u. Porter 1954), an den Stützzellen der Geschmacksknospe des Kaninchens (Lorenzo 1958) und des Sinnesepithels im Labyrinth des Meerschweinchens (Engström u. Versäll 1958). Außerdem findet man Mikrovilli-ähnliche Gebilde in Lichtsinnesorganen mehrerer Arthropoden, Hirudineen, Mollusken und in den Pigmentbecherocellen des Miracidiums des Leberegels *Fasciola hepatica* L. (s. Brandenburg 1960 [Arthropoden], Hansen 1962 [Hirudineen u. a.] und Kümmel 1960 [*Fasciola*]).

Da Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen vor allem in Organen mit hohen Transportleistungen beobachtet werden, wird das Auftreten dieser Strukturen besonders im Zusammenhang mit dem Stofftransport diskutiert. In den ersten elektronenmikroskopischen Arbeiten, bei denen man Mikrovilli sah, dachte man an eine Vergrößerung der Zelloberfläche zur Erleichterung des Stoffdurchtritts.

Granger und Baker (1950) errechneten, daß sich etwa 2×10^8 Mikrovilli auf einem Quadratmillimeter Darmoberfläche befinden (zitiert nach Fawcett 1958). Im Hauptstück der Säugerniere wird die Oberfläche um den Faktor 50 (Rollhäuser und Vogell 1957) oder (Rhodin 1958) durch das Auftreten von Mikrovilli vergrößert. Policard, Collet und Gietaire-Ralyte (zit. n. Fawcett 1958) errechneten, daß aufgrund der Oberflächenvergrößerung durch die Mikrovilli die Säugerniere eine innere Oberfläche von 50—60 m^2 erhält.

Angaben über die Oberflächenvergrößerung aufgrund basaler Membraneinfaltungen findet man weniger. Nach Rollhäuser und Vogell (1957) vergrößert sich die basale Oberfläche der Hauptstückzellen im Säugernephron durch Einfaltungen der Membran um den Faktor 20. Holmberg (1957) gibt für das Ciliarepithel eine Zunahme um das 7-Fache an.

Pease (1956) vermutet, daß die basale Oberfläche von Zellen, die an der Basalmembran befestigt sind, nicht die Möglichkeit hat, stäbchenförmige Ausstülpungen zu bilden, sondern nur durch Membraneinfaltungen vergrößert werden kann.

Die Betrachtungen der Oberflächenvergrößerung durch Membranstrukturen werden sich vermutlich sehr fruchtbar erweisen, wenn wir mehr über den Aufbau der Zellmembran wissen. Ein großer Teil lebenswichtiger Verbindungen wird von den Zellen durch „aktiven Transport" aufgenommen oder abgegeben. Hierunter versteht man einen Stofftransport unter Aufwendung von Stoffwechselenergie, der auch gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgen kann und weitgehend selektiv ist. Es spricht einiges dafür, daß dieser Transport unter Beteiligung von „Transport-Enzymen" abläuft, deren Sitz die Zellmembran ist (s. Wilbrandt 1960). Als Modell für die Einlagerung von Fermenten in Membranen können die Verhältnisse in den Membranen der Mitochondrien dienen (s. Green 1960). In diesen ist ein großer Teil des Enzymsystems der oxydativen, energieliefernden Vorgänge der Zelle in bestimmter orientierter Weise eingebaut, so daß dem komplizierten Hinter- und Nebeneinander einer großen Zahl von Prozessen eine ganz bestimmte räumliche Ordnung entspricht.

Als Beispiel für das Auftreten von Fermenten mögen weiterhin die Phosphatasen dienen. Es ist in letzter Zeit mehrfach gelungen Phosphomonoesterasen histochemisch in den Zellmembranen oder in deren unmittelbarer Nähe zu demonstrieren. Kaplan und Novikoff (1959) wiesen ein ATP-spaltendes Ferment in der Nähe der Membranen oder in den Membranen der basalen Zellwandeinstülpungen in der Rattenniere nach. Essner, Novikoff und Masek (1958) beobachteten Adenosintriphosphatase und eine andere spezifische Phosphomonoesterase in den Mikrovilli der Gallengänge der Leber. Barrnet (1959) beschreibt eine „alkalische Phosphatase"in den Membranen der Mikrovilli im Duodenum. Die eindrucksvollsten Bilder sind wohl die von Mölbert, Duspiva und v. Deimling (1960 a und b). Auf den Aufnahmen sieht man das histochemische Reaktionsprodukt mit einer „alkalischen Phosphatase" in den oder in unmittelbarer Nähe der Membranen der Mikrovilli und der basalen Zellwandeinfaltungen des Hauptstückepithels in der Mäuseniere.

Die Auffassung der Zellmembran als Sitz bestimmter „aktiver Stoffe" und bestimmter Stoffwechselvorgänge hat den Vorteil, daß man die Betrachtung auf andere Gewebe erweitern kann, die morphologisch ähnliche Oberflächenstrukturen besitzen wie drüsige Organe, bei denen meines Wissens jedoch über Stofftransporte nichts bekannt ist. Es wurde bereits angegeben, daß auch bei Sinnesor-

ganen, besonders bei Lichtsinnesorganen, Mikrovilli-ähnliche Strukturen auftreten. Sjöstrand (1959) hat die Vermutung ausgesprochen, daß in den — hier allerdings nicht Mikrovilli-ähnlichen, sondern scheibchenförmigen — Membrangebilden der Stäbchen im Wirbeltierauge der lichtabsorbierende Farbstoff in die Membranen eingelagert ist. Schließlich kann man noch bei Pflanzen die Lamellensysteme von Plastiden anführen, bei denen Hodge (1959) eine Einlagerung des lichtabsorbierenden Chlorophylls in die Membranen annimmt.

Neben der Betrachtung der Mikrovilli und basalen Zellwandeinfaltungen als Strukturen, die die „aktive", an Transportvorgängen beteiligte Zellmembranen vergrößern, erscheint mir noch ein weiterer Gedanke erwähnenswert. Betrachtet man elektronenmikroskopische Aufnahmen von Zellen, so fällt einem auf, daß erstens alle bereits früher bekannten Zellorganelle Membranstrukturen sind und daß zweitens diese Membranstrukturen morphologisch abgeschlossene Räume in Form der Mitochondrien, Golgiapparate, des „endoplasmatischen Retikulums" und der Vakuolen bilden. Eine Ausnahme hiervon macht vielleicht der Kern, bekanntlich zeigt die Kernmembran im elektronenmikroskopischen Bild Poren, so daß an einigen Stellen Kerninhalt und Plasma in Berührung zu stehen scheinen. Ob dies tatsächlich immer der Fall ist, ist noch nicht vollständig geklärt, da verschiedentlich eine einfache Membran beobachtet wurde, die die „Kernporen" verschließt.

Bei einem derartigen Bild vom Aufbau der Zellen liegt die Vermutung nahe, daß die beobachteten Räume eine Voraussetzung für das geordnete Nebeneinander von Vorgängen in einer Zelle sind. Dies ist ein Gesichtspunkt, der ganz klar in dem Lehrbuch der Biochemie von Karlson (1961) dargelegt wird:

„Ein wesentliches Mittel der Regulation (gemeint ist „des Stoffumsatzes") ist die Unterteilung der Zelle in bestimmte submikroskopische Struktureinheiten, die verschiedene Aufgaben haben. Die Enzyme, die die verschiedenen Umwandlungen bewirken, sind zumeist nicht nebeneinander im Zellsaft gelöst. Sie sind teils an bestimmte Strukturen gebunden, teils in Zellelemente eingeschlossen und zwischen diesen Strukturen und dem Zytoplasma bestehen Permeabilitätsschranken. So kommt man zum Bild einer aus verschiedenen Abteilungen (Kompartimenten) bestehenden Zelle, das der alten Vorstellung vom „Protoplasma als kolloidalem System" diametral entgegengesetzt ist."

Nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse erscheint es mir kaum möglich anzugeben, ob die Bildung der langgestreckten, auf einer Seite offenen Plasmaräume Mikrovilli und basale

Plasmalamellen mit der Errichtung lokaler Konzentrationsunterschiede, wie es oben bei Zellorganellen angenommen wird, zusammenhängt. Es sollte nur gezeigt werden, daß auch in dieser zweiten Ansicht von den Membranstrukturen eine erwähnungswerte Vorstellung vorliegt.

2. *Die Einschlüsse der Zilienkanalzellen*

Bei der Beschreibung der Feinstruktur der einzelnen Kanalabschnitte des Nephridiums wurden in den Zilienkanalzellen $2{,}5 \times 1\ \mu$ bis $0{,}7 \times 0{,}4\ \mu$ große vakuolenartige Hohlkörper beschrieben. Im Innern dieser Gebilde befindet sich feinkörniges Material, das entweder über den ganzen Innenraum gleichmäßig verteilt ist, oder auf einen kleinen, meist zentral gelegenen, Raum zusammengezogen erscheint, so daß ein dunkles Zentrum mit einem hellen Hof darum zu sehen ist. Mit dem Lichtmikroskop beobachtet man in der Wandung des Zilienkanals eine große Zahl bräunlicher Granula, die für die makroskopisch sichtbare dunkle Färbung dieses Abschnittes des Nephridialkanals verantwortlich sind. Diese Granula entsprechen sicher den elektronenmikroskopisch beobachtbaren Hohlkörpern.

Die chemische Natur der „braunen Granula" wurde bereits von Willem und Minne (1899/1900) untersucht. Nach der Löslichkeit wurde Guanin vermutet. Bahl (1945) wiederholte die Löslichkeits-Versuche und fand, daß einige typische Reaktionen auf Guanin negativ ausfielen. Spektroskopisch wies er dann Hämochromogen nach, ein Abbauprodukt des Hämoglobins, das bei den Regenwürmern als Blutfarbstoff vorkommt. Es könnte nach Bahl (1945) allerdings sein, daß noch andere Stoffe zusammen mit dem Hämochromogen abgelagert werden. Die Frage, ob das Hämochromogen, und eventuell die anderen mit abgelagerten Substanzen, aus dem Lumen des Nephridialkanals aufgenommen werden oder auf anderem Wege in die Zellen gelangt, ist nicht abgeklärt. Es ist jedoch auffallend, daß Kanalabschnitte, in deren Wandung sich braune Granula befinden, nur in Nephridien beschrieben werden, die in der Cölomhöhle mit einer Trichteröffnung beginnen; bei dem im Körper blind endenden Nephridien fehlen sie (Bahl 1947).

Die Zilienkanalzellen sind in der Lage, Farbstoffe und andere Substanzen aufzunehmen und in vorgebildeten vakuolenartigen Gebilden zu speichern (G. Schneider 1896, Cuénot 1898, Willem und Minne 1899/1900, Cordier 1934). Da auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen keine weiteren Einschlüsse als die oben beschriebenen Hohlkörper zu sehen sind, muß man annehmen, daß in diesen auch die Farbstoffe fixiert werden können.

Umstritten ist die Zeitspanne, während der die gespeicherten Stoffe in den Zellen bleiben. Cuénot (1898) meint, die Stoffe werden nur langsam eliminiert. Bahl (1947) nimmt an, daß die aufgenommenen Substanzen nicht wieder ausgeschieden werden, sondern zeitlebens erhalten bleiben. In diesem Fall entspräche der Zilienkanal einer „Speicherniere".

Es wurde bereits oben darauf hingewiesen, daß auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen die hier behandelten Einschlüsse verschieden aussehen können. Einige erscheinen hell, andere haben ein gleichmäßig über den Innenraum verteiltes feinkörniges Material und bei einigen ist das körnige Material in der Mitte des Hohlkörpers zusammengezogen und erscheint dann gegenüber dem umgebenden hellen Rand sehr dunkel. Während normalerweise die Einschlußkörper der Zilienkanalzellen nicht in der Nähe des Kanallumens gefunden werden, liegen in den auf S. 239 ff. erwähnten Nephridien, bei denen sich die Bakterien der Ampulle auf dem Wege zur Endblase befanden, mehrere der vakuolenartigen Hohlkörper in unmittelbarer Nähe des apikalen Zellrandes. Bei einigen steht der Innenraum mit dem Lumen in Verbindung. In diesem Fall erscheinen die Hohlkörper leer und wirken wie Vakuolen. Nach diesen elektronenmikroskopischen Beobachtungen wirken die beschriebenen Hohlkörper nicht wie statische Elemente, in denen Pigmente abgelagert werden und zeitlebens erhalten bleiben. Man hat vielmehr den Eindruck, daß in diesen Strukturen Stoffe ab- und umgebaut werden, ähnlich wie in Nahrungsvakuolen von „Protozoen". Bei dem von Bahl (1945, 1947) in den Zilienkanalzellen nachgewiesenen Hämochromogen handelt es sich um die Verbindung des Häms mit denaturiertem Globin (Leuthardt 1960). Es ist nicht bekannt, an welcher Stelle im Regenwurm der Abbau des Hämoglobins zum Hämochromogen vor sich geht. Es ist vorstellbar, daß dieser Abbau erst in den Zilienkanalzellen erfolgt. Für diese Vermutung spricht das wechselnde Bild vom Inhalt der Hohlkörper und die große Zahl von Mitochondrien zwischen des Hohlkörpern.

3. Die Einschlüsse der Ampullenzellen

Die Einschlußkörper der Ampullenzellen sind meist größer als die des Zilienkanals (zwischen $6 \times 1{,}6\ \mu$ und $0{,}5 \times 0{,}6\ \mu$). Im Gegensatz zu den vakuolartigen Hohlkörpern des Zilienkanals wurde in der Ampulle nie beobachtet, daß Einschlußkörper der Zellen mit dem Kanallumen in Verbindung treten können. Auf allen Aufnahmen ist das Kanallumen von einem schmalen Plasmasaum umgeben, der immer frei von Einschlüssen ist. In den Einschluß-

körpern sieht man häufiger körniges, in einigen Fällen lamellenartiges Material, das nie wie bei den Hohlkörpern des Zilienkanals in der Mitte zusammengezogen ist. Die Wandung der Einschlußkörper ist, besonders nach Fixierung mit Permanganat, nicht immer scharf, häufig scheinen einige der Körper miteinander zu verschmelzen. Zwischen den Einschlußkörpern liegt wieder eine größere Zahl von Mitochondrien. Weitere Einzelheiten findet man auf den Seiten 224 ff.

Es ist nach den elektronenmikroskopischen Bildern wohl kaum möglich, die Bedeutung dieser Strukturen zu erkennen. Es scheint ein Zusammenhang mit den auf der apikalen Zelloberfläche befestigten Bakterien zu bestehen, da in den Nephridien, in denen Bakterien im Bläschenkanal und in der Endblase auftreten, auch in diesen Tubulusabschnitten Einschlußkörper beobachtet werden, die denen in den Ampullenzellen ähneln. Vielleicht besteht eine Aufgabe in Verbindung mit der Bakteriensymbiose. Man könnte an Vorgänge im Zusammenhang mit der von P a n d a z i s (1931) angenommenen Eiweißrückresorption in die Ampullenzellen hinein denken.

4. Die Strukturen des Bläschenkanals

Die Tubuluszellen des Bläschenkanals sind angefüllt mit einer großen Zahl rundlicher Bläschenstrukturen. Man könnte diese Strukturen als Anschnitte eines tubulären Systems nach Art des „Endoplasmatischen Reticulums" auffassen. Außer diesen kleinen Bläschenstrukturen sieht man größere Vakuolen, deren Innenraum teilweise mit dem Lumen des Kanals in Verbindung steht. Der letzte Abschnitt des Bläschenkanals in der kurzen Schleife ist durch besonders eigentümliche Vakuolen ausgezeichnet, die gegen das Tubuluslumen nur durch einen schmalen Plasmamantel abgegrenzt sind. Weitere Einzelheiten auf Seite 229 ff.

Am fixierten Objekt ist es nicht möglich zu entscheiden, ob die mit dem Kanallumen in Verbindung stehenden Vakuolen ihren Inhalt in den Kanal entleeren, oder ob sie umgekehrt Material aufnehmen. Im ersten Fall wäre das Epithel dieses Tubulusabschnittes sekretorisch, im zweiten Fall besäße es die Fähigkeit zur „Phagocytose", der Aufnahme lichtmikroskopisch sichtbarer Teilchen, oder zur „Pinocytose", der Aufnahme von Flüssigkeit (s. H o l t e r 1959). Wäre dieser Tubulusabschnitt zur Pinocytose oder Phagocytose fähig, dann würden hier vermutlich auch die in die Cölomhöhle injizierten Farbstoffe aus dem Lumen des Kanals aufgenommen werden. Dies wurde meines Wissens bisher jedoch nicht beobachtet.

Beim letzten Abschnitt des Bläschenkanals kann man sich eine Reihe vorstellen, in der einzelne Stadien des Übertritts von Vakuolen

in das Kanallumen zusammengestellt sind (Aufn. 11). Das letzte Stadium wird verkörpert durch eine Vakuole im Lumen des Tubulus, die auch hier noch einen dünnen plasmatischen Mantel besitzt. Die Annahme, es würden umgekehrt mit einem dünnen Mantel umschlossene Vakuolen aus dem Tubuluslumen in die Zellen aufgenommen, scheint mir ungerechtfertigt zu sein. Man müßte in diesem Fall annehmen, daß die Umhüllung der Vakuolen mit dem Plasma der Zellen verschmilzt. Aus diesem Grund erscheint es mir berechtigt anzunehmen, daß der Bläschenkanal, zumindest sein letzter Abschnitt, sekretorisch tätig ist. Es ist bereits früher angenommen worden, daß der „Drüsenkanal" (s. S. 193) sekretorisch tätig ist, doch bezogen sich die Beobachtungen damals auf die Ampulle, die von dem in dieser Arbeit „Bläschenkanal" genannten Kanalabschnitt nicht klar getrennt wurde.

Nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen kann man nicht entscheiden, ob außerdem in diesem Kanalabschnitt noch weitere Prozesse lokalisiert sind. Es ist auch nicht möglich anzugeben, wie die sezernierten Stoffe in die Tubuluszellen gelangen. Die Fülle von Membranstrukturen legt die Vermutung nahe, daß hier vielleicht sogar besondere Syntheseschritte ablaufen. Das Bild eines ausgeprägten „Endoplasmatischen Reticulums" ist einem aus Säugetiergeweben, in denen besonders viele Umwandlungen stattfinden, gewohnt. Doch haben die im Nephridium beobachteten Membranstrukturen nicht viel Ähnlichkeit mit dem „Endoplasmatischen Reticulum" in Säugetierzellen.

In den Nephridien, bei denen Bakterien im Bläschenkanal zu finden sind, fehlen Bläschenstrukturen und Vakuolen in den Bläschenkanalzellen vollständig. Die angenommene Sekretion wird demnach in Nephridien, bei denen Bakterien aus der Ampulle in die Blase geschwemmt werden, eingestellt.

5. Die Strukturen des „Inneren Epithels" der Endblase

Nach Maziarski (1903, s. S. 236) ist die Endblase nicht mehr am exkretorischen Geschehen beteiligt, sondern nur ein Sammelgefäß, das den Harn von Zeit zu Zeit ausstößt.

Die elektronenmikroskopisch sichtbaren, verstreut stehenden Mikrovilli, die Granula und die nicht geringe Zahl von Mitochondrien in den Zellen scheinen mir gegen diese Auffassung zu sprechen. Es ist mir allerdings nicht möglich anzugeben, welche Vorgänge hier ablaufen sollten.

6. Die Feinstruktur der Hüllzellen

Wie aus der vorhergehenden Beschreibung hervorgeht, gibt es im Nephridium neben Strukturen, die auch in anderen Exkretionsorganen beobachtet werden, eine ganze Reihe von Bildungen, die aus keinem Exkretionsorgan bekannt sind. Hierzu gehören die Einschlüsse der Zilienkanalzellen, die Strukturen der Ampulle, die Strukturen des Bläschenkanals, die Feinstruktur des „Inneren Epithels" der Endblase und ganz besonders das eigentümliche Element der membrangefüllten und sehr mitochondrienreichen Hüllzellen.

Für die Vielfalt der Strukturen im Laufe des Nephridialkanals wurden bei der Besprechung der Membranstrukturen Mikrovilli und basale Zellwandeinfaltungen bereits zwei Erklärungsmöglichkeiten genannt. Man könnte sich vorstellen, daß die in anderen Exkretionsorganen in einem Segment ablaufenden Vorgänge im Nephridium auf mehrere Abschnitte verteilt sind. Außerdem sind wegen des zum Cölomraum geöffneten Tubulus bestimmte Fähigkeiten, wie vielleicht die Eiweißrückresorption, vermutlich in weit stärkerem Maße vorhanden als in anderen Exkretionsorganen, die im Körper geschlossen beginnen.

Nach der großen Zahl von Mitochondrien zu urteilen, müssen die Hüllzallen einen sehr regen Stoffwechsel haben. Da bei anderen Exkretionsorganen keine mit den Hüllzellen vergleichbaren Gewebe vorkommen, ist in Betracht zu ziehen, daß in den Hüllzellen des Nephridiums vielleicht Prozesse des allgemeinen Stoffwechsels ablaufen, die bei anderen Tierformen nicht in Exkretionsorganen lokalisiert sind. Über die Art dieser Vorgänge läßt sich zur Zeit noch nichts aussagen.

7. Die Elementarfibrillen in den Kanalzellen

In den lichtmikroskopischen Arbeiten werden in allen Zellen des Nephridialkanals mit Ausnahme der Zellen des Trichterhalses und des „Inneren Epithels" der Blase fibrilläre Elemente beschrieben. Heidenhain (1899, zitiert bei Maziarski 1903) nannte ähnliche Strukturen in Darmzellen „Widerstandsfibrillen". Maziarski (1903) nimmt an, die Fibrillen hätten das Kollabieren des feinen Nephridialkanals zu verhindern.

Auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen bestehen die beschriebenen Fibrillen aus Bündeln von etwa 100 Å dicken Elementarfibrillen. Der Vermutung Maziarskis (1903), diese Strukturen

hielten das Lumen geöffnet, widerspricht die Tatsache, daß man, besonders bei mit Permanganat fixierten Objekten, häufig ein vollständig kollabiertes Lumen beobachtet. Auch am lebenden Objekt wurde gesehen, daß der Zilienkanal sich vollständig schließen kann. Ähnliche Beobachtungen machte R a m s a y (1949/50). Die Bezeichnung „Widerstandsfibrillen" erscheint mir demnach nicht berechtigt. Die Bedeutung dieser Strukturen ist mir unbekannt.

8. Blutkapillaren

Die ersten beiden Schleifen und der Stäbchenkanal haben eine sehr intensive Blutversorgung. An vielen Stellen der Kapillaren im Nephridium beobachtet man ampullenartige Erweiterungen, von denen B a h l (1947) annimmt, sie stellten kleine Blutfilter dar. Es wurde bereits angegeben, daß beim Regenwurm bisher keine Kapillare beobachtet wurde, deren Wandung direkt an das Tubuluslumen angrenzte. Das Kanallumen ist in allen Fällen von röhrchenförmigen Kanalzellen umgeben, so daß sich mindestens eine Zellschicht zwischen dem Lumen und der Kapillarenwandung befindet. Dieser Aufbau macht es unwahrscheinlich, daß eine Filtration in das Tubuluslumen hinein erfolgt.

Auch die Feinstruktur der Kapillarwandung spricht gegen die Annahme einer Filtration. Das am besten untersuchte Beispiel einer Filtration ist die Abscheidung des Primärharns durch die Wandung der Glomeruluskapillaren im Wirbeltiernephron. Die Wandung der Glomeruluskapillaren hat eine Feinstruktur, die sie für eine Filtration als sehr geeignet erscheinen läßt. Die innere zellige Auskleidung der Kapillaren, das „Endothel", ist sehr dünn und von vielen kleinen Poren durchbrochen. Außen, auf der Seite der B o w m a n schen Kapsel, bedecken eigentümlich differenzierte Zellen die Kapillare. Diese sogenannte „Podozyten" besitzen zahlreiche Ausläufer („Trabecula"), die je eine Zahl kleinerer Fortsätze („Pedicellen") abgeben. Die „Pedizellen" parallel nebeneinander angeordneter „Trabecula" verzahnen miteinander, lassen dabei jedoch zwischen sich feine Schlitze frei. Das System von „Trabecula" und „Pedizellen" liegt der Kapillarwandung von außen dicht an. Zwischen dem „Endothel" und den „Podozyten" befindet sich eine dünne, bindegewebige, extrazelluläre Schicht. Man stellt sich vor, daß der Primärharn infolge des Blutdruckes durch die Poren im „Endothel",

durch die extrazelluläre Zwischenschicht und zwischen die sich verzahnenden „Pedizellen" hindurch in den Raum der Bowmanschen Kapsel hinein abgepreßt wird. Die eigentliche Filtermembran ist bei diesem Vorgang die extrazelluläre Zwischenschicht. Die Zellen des „Endothels" und die Ausläufer der „Podozyten" dienen vermutlich nur der Versteifung des Filterapparates (s. Smith 1953). Nach dieser Vorstellung gelangt der Primärharn bei der Filtration in der Wirbeltierniere nicht durch Zellmembanen mit deren schwer zu übersehenden Auswahl- und Transportvermögen, sondern nur durch ein extrazelluläres Gebilde.

Beim Miracidium des Leberegels wird vermutlich eine Flüssigkeit durch die Wandung des Terminalorgans der Protonephridien aus den Lücken des Gewebes in der Leibeshöhle abgefiltert (Kümmel 1958). Auch hier kann man diesen Vorgang als Stoffdurchtritt zwischen zelligen Elementen hindurch und durch eine wohl extrazelluläre Schicht interpretieren. Inzwischen ist dieser Befund durch die Arbeiten von Brandenburg und Kümmel (s. Tabelle 1, S. 265 f.) an einem Turbellar, einem Gastrotrichen, einem Entoprocten und einem Polychaeten bestätigt worden. Dem bei all diesen Formen auftretenden Typ der Terminalzelle wurde der Name „Cyrtocyte" gegeben. Eine Ausnahme unter den „Cyrtocyten" machen die Solenocyten von *Branchiostoma* (Brándenburg und Kümmel 1961). Hier ist nach den elekronenmikroskopischen Aufnahmen der Ort der Filtration nicht, wie bei den obengenannten Terminalzellen, die Cytrocyte selbst, sondern die Wand des in der Nähe befindlichen Blutgefäßes.

Im Gegensatz zur Wand der Glomeruluskapillaren und zur Wandung der Terminalorgane ist die Wandung der Kapillaren im Nephridium niemals dikontinuierlich, sondern immer ein völlig geschlossenes zelliges Rohr. Man müßte hier eine Filtration durch Zellen hindurch annehmen, die meines Wissens bisher jedoch noch nicht beobachtet worden ist.

In vielen Fällen ist die Wand der Kapillaren sehr dünn, so daß man eine geringe Behinderung beim Stoffdurchtritt vermuten kann. Über die Richtung des Stofftransportes läßt sich nichts aussagen. Kleine Bläschen, wie sie Bennet, Luft und Hampton (1959) in der Wandung von Säugetierkapillaren schildern, sind mir bei den Gefäßen des Nephridiums nicht aufgefallen. Es wurde vermutet, daß diese Bläschen am Stofftransport beteiligt sind.

IV. Gedanken zur Anordnung des Nephridialkanals

Bisher wurde der Nephridialkanal als ein Hintereinander von Abschnitten mit verschiedener Struktur und vielleicht verschiedenen Vorgängen geschildert. Besonders angesichts eines Schemas vom Kanalverlauf (Abb. 1) wird es jedoch deutlich, daß der Tubulus gar nicht ein gestrecktes Gebilde ist, sondern daß auf Grund komplizierter Windungen die verschiedenen Kanalabschnitte in einem ganz bestimmten Muster nebeneinander angeordnet sind. Diese Anordnung ist so auffallend, daß man sofort den Eindruck gewinnt, daß hier eine besondere Bedeutung vorliegt.

In der „kleinen Schleife" liegen immer zwei Schenkel des Schleifenkanals und ein Abschnitt des Bläschenkanals nebeneinander. In der „großen Schleife" findet man auf einem Querschnitt immer beide Schenkel des Schleifenkanals, den Zilienkanal und die Ampulle oder den Bläschenkanal. Die Anordnung der Tubulusabschnitte ist so, daß ein dem Trichter näherer Teil neben einem vom Trichter entfernteren liegt. An ganz bestimmten Stellen sind die Strömungsrichtungen in nebeneinander herlaufenden Tubulusteilen einander entgegengesetzt. Dies erinnert einen an das „Gegenstromprinzip". Hierunter versteht man ein Prinzip, das die Möglichkeit gibt, einzelne Austauscheffekte auf Grund einer unterschiedlichen Strömungsrichtung zu summieren.

Auch bei anderen Exkretionsorganen findet man Andeutungen einer Anordnung, wie sie aus dem Nephridium beschrieben wurde. Es ist auffallend, daß viele Exkretionsorgane, zum Beispiel die Antennendrüse von Crustaceen, die Coxaldrüse von Spinnentieren und Wirbeltiernephrone, nicht gestreckte Gebilde sind, sondern daß sie aus stark aufgeknäulten Tubuli bestehen. Man hat in diesen Fällen jedoch nicht den Eindruck, daß die Aufknäuelung eine besondere Ordnung darstellt. Nur von Vögeln und Säugetieren ist mir in Form der „Henleschen Schleife" eine ähnlich konstante Anordnung wie beim Nephridium des Regenwurmes bekannt. Die sehr charakteristische und konstante Anordnung des Säugernephrons und des Nephrons der meisten Vögel läuft parallel mit der Fähigkeit dieser Formen, einen gegenüber dem Blut stark konzentrierten Harn auszuscheiden. Bei anderen Wirbeltiergruppen ist der Harn beim Verlassen der Niere gegenüber dem Blut verdünnt. Die Konzentrierung des Harns bei den Reptilien geht erst in der Blase vor sich (Perschmann 1956). Die auffallende Parallele

zwischen dem Auftreten einer Henleschen Schleife und der Fähigkeit zur Konzentrierung des Harns veranlaßte eine Reihe von Untersucher zu Modellvorstellungen über die hier wirkenden Mechanismen (Kuhn u. Ryffel 1942, Hargitay u. Kuhn 1951, s. auch Schmidt-Nielsen 1958 und Prosser und Brown 1961). Diese Modelle nehmen die Wirkung des Gegenstromprinzips an. Die folgende Beschreibung stützt sich besonders auf die Darstellung in Prosser und Brown (1961). Man unterscheidet am Nephron einen von der Nierenrinde zum Mark führenden absteigenden von einem zur Rinde zurückführenden aufsteigenden Schenkel der Henleschen Schleife. Das Nephron hat also Haarnadelform. Ionen werden im aufsteigenden Schenkel aktiv aus dem Tubuluslumen entnommen und gelangen passiv in das umgebende Gewebe und besonders auch in den absteigenden Schenkel. Dadurch nimmt im absteigenden Schenkel und in dem umgebenden Gewebe die Ionenkonzentration stetig zu und es stellt sich ein Konzentrationsgradient von der Nierenrinde zum Mark ein. Infolgedessen durchlaufen die auf die aufsteigenden Schenkel der Nephrone folgenden Sammeltubuli von der Rinde zum Mark und zum Nierenbecken Gewebe mit steigender Ionenkonzentration. Hierdurch wird dem in den Sammeltubuli enthaltenen Harn Wasser entzogen und er wird stark konzentriert. Ein weiteres Beispiel für eine Wirkung des Gegenstromprinzips ist die Gasabscheidung in der Schwimmblase vieler Fische (H. J. Kuhn u. W. Kuhn 1961; H. J. Kuhn, P. Moser u. W. Kuhn 1962).

Von einer Konzentrierung des Harns in der hypothetischen „Gegenstromanordnung" des Nephridiums ist bisher nichts bekannt. Die Untersucher sind sich einig darin, daß der Regenwurm einen verdünnten Harn ausscheidet. Es ist mir im Rahmen dieser morphologischen Arbeit nicht möglich weitergehende Aussagen über die auffällige Anordnung des Nephridialkanals zu machen, doch erscheint es mir angebracht, bei künftigen physiologischen Untersuchungen am Nephridium auch an die Möglichkeit der Wirkung des Gegenstromprinzips zu denken.

Zusammenfassung

Die Feinstruktur des Nephridiums von *Lumbricus terrestris* L. wurde elektronenmikroskopisch untersucht.

Erprobt wurden 6 verschiedene Fixierungsmittel, von denen Osmiumsäurelösung nach Sjöstrand (1955), Osmiumsäurelösung nach Palade (1952) und Permanganat nach Luft (1956) für die weitere Untersuchung ausgewählt wurden.

Als Einbettungsmittel dienten ein Methacrylatgemisch und „Plexigum".

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen früherer Bearbeiter des Nephridiums können im wesentlichen bestätigt werden.

Eine auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen häufig beobachtete Zellgrenze, die die auf Querschnittsbildern ringförmige Kanalzelle durchzieht, erweckt Zweifel daran, daß das Kanallumen „intrazellulär" ist.

Die Feinstruktur der Kanalabschnitte wird eingehender beschrieben. Die Trichterhalszellen tragen Zilien und wenige, sehr kleine Mikrovilli. Der Schleifenkanal besteht aus zwei Abschnitten, von denen der erste eine relativ glatte apikale Oberfläche besitzt und der zweite einen Stäbchensaum aus einer großen Zahl regelmäßig angeordneter Mikrovilli. Der Zilienkanal ist ausgezeichnet durch eine große Zahl „vakuolenartiger Hohlkörper". Die Ampullenzellen sind wie die Zilienkanalzellen mit Einschlußkörpern vollständig ausgefüllt. Diese Einschlußkörper unterscheiden sich von den „vakuolenartigen Hohlkörpern" im Zilienkanal. Im Ampullenlumen sieht man eine große Zahl Bakterien. Der letzte Teil der Ampulle zeigt Einfaltungen der basalen Zellmembran in die Zellen hinein. In den hierdurch gebildeten Zellkompartimenten liegen Mitochondrien. Die dem Lumen zugewandte Oberfläche der Bläschenkanalzellen ist sehr unregelmäßig gestaltet. Das Plasma in den Bläschenkanalzellen besitzt eine eigentümliche, sehr charakteristische Feinstruktur aus Bläschen und Membranen. Bei den Stäbchenkanalzellen findet man weit intensivere Einfaltungen der basalen Zellmembran als bei den Ampullenzellen. Auch ist die Zahl der Mitochondrien weit größer. Das Gewebe der Endblase setzt sich aus 4 Schichten zusammen. Das innere, flache Epithel wird von einer dünnen Schicht Interzellularsubstanz eingehüllt. Nach außen folgt eine Muskelschicht und das Cölomepithel. Bei einem Nephridium wurden, abweichend vom Normalfall, Bakterien auch im Bläschenkanal und in der Endblase beobachtet. Es handelt sich vermutlich um Nephridien, bei denen im Zusammenhang mit der Übertragung der symbiontischen Bakterien an die Nachkommen des Regenwurmes Bakterien aus der Ampulle nach außen transportiert wurden.

Ein charakteristisches Element der ersten beiden Schleifen sind die vollständig mit Membranen und Mitochondrien angefüllten Hüllzellen. Weiterhin wird die Feinstruktur der Cölomzellen, Amöboidzellen, der Interzellularsubstanz, der Blutgefäße, Zilien und Muskelzellen beschrieben.

Die beschriebenen Feinstrukturen wurden mit denen in anderen Exkretionsorganen verglichen. Es wurde versucht aus den Übereinstimmungen Hinweise auf die Funktion zu erhalten:

Da im Nephridium Strukturen, die in anderen Exkretionsorganen in einer Zelle vorkommen (Mikrovilli und basale Zelleinfaltungen), in verschiedenen Kanalabschnitten lokalisiert sind, liegt die Vermutung nahe, daß im Gegensatz zu anderen Exkretionsorganen im Nephridium eine Reihe von Vorgängen voneinander räumlich weit getrennt ablaufen. Bei den „vakuolenartigen Hohlkörpern" des Zilienkanals hat man den Eindruck, daß hier Umwandlungen vor sich gehen und dieser Kanalabschnitt nicht, wie bisher angenommen wurde, als „Speicherniere" aufzufassen ist. An die Parallele zwischen dem Auftreten von Bakterien im Kanallumen und Einschlüssen in den Zellen werden Erwägungen angeschlossen. Die Feinstruktur des „inneren Epithels" der Blase macht es unwahrscheinlich, daß dieser Teil des Nephridiums ausschließlich als Reservoir und zur Ausscheidung des Harns dient und sonst am Exkretionsgeschehen nicht mehr beteiligt ist. Die Betrachtung der Feinstruktur der Hüllzellen führt zu dem Gedanken, daß im Nephridium vielleicht neben den auch aus anderen Exkretionsorganen bekannten Vorgängen Prozesse des allgemeinen

Stoffwechsels lokalisiert sind. Eine Stütze für die von Bahl (1947) angenommene Filtration aus den Blutgefäßen in das Kanallumen läßt sich aus der Feinstruktur der Kapillaren am Nephridium nicht gewinnen.

Die auffällige Anordnung des Nephridialkanals an den beiden ersten „Schleifen" des Nephridiums erinnert an das in letzter Zeit im Zusammenhang mit der Säugerniere und der Schwimmblase von Fischen vielfach diskutierte Gegenstromprinzip.

Literatur

Die mit einem * versehenen Arbeiten wurden nur im Referat gelesen.

Anderson, E.: The ultramicroscopic structure of a reptilian kidney. J. Morphol. *106*, 205—211 (1960).

— und Beams, H. W.: Light and electron microscope studies on the cells of the labyrinth in the "green gland" of *Cambarus sp.* Proc. Iowa. Ac. Sci. *64*, 680—685 (1956).

— — : The fine structure of Malpighian tubulus of *Dytiscus sp.:* Preliminary communication. Proc. Iowa Ac. Sci. *64*, 680—685 (1957).

Bahl, K. N.: Structure, development and physiology of the nephridia of Oligochaeta. VI: The physiology of excretion and the significance of the enteronephric type of nephridial system. Quart. J. microsc. Sci. *85*, 343 ff. (1945).

— Excretion in the Oligochaeta. Biol. Rev. Cambridge *22*, 109—147 (1947).

Bairati, A. und Iurato, S.: The ultrastructural organisation of „Plana semilunata". Exp. Cell Res. *20*, 77—83 (1960).

Bargmann, W.: Über die Struktur der Blutkapillaren. Dtsch. med. Wschr. *83*, 1704—1710 (1958).

— Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Stuttgart (1959).

— Knoop, A. und Schiebler, Th. H.: Histologische, cytochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nephron. (Mit besonderer Berücksichtigung der Mitochondrien) Z. Zellforsch. *42*, 386—422 (1955).

Barrnett, R. I.: The demonstration with the electron microscope of the end-products of histochemical reactions in relation to the fine structure of cells. Exp. Cell Res. Suppl. *7*, 65—89 (1959).

Bayer, M. und Peters, D.: „Plexigum", ein neues Einbettungsmittel für die Elektronenmikroskopie. J. Ultrastructure Research *2*, 444—452 (1959).

Beams, H. W. und Anderson, E.: Light and electron microscope studies on the striated border of the intestinal epithelial cells of insects. J. Morphol, *100*, 601—619 (1957).

— — und Press, N.: Light and electron microscope studies on the cells of the distal portion of the crayfish nephron tubule. Cytologia *21*, 50—57 (1956).

— Tahmisian, T. N. und Devine, R. L.: Electron microscope studies on the cells of the Malpighian tubules of the grashopper (Orthoptera, Acrididae). J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *1*, 197—202 (1955).

— — — Electron microscope observations on cilia from the nephrostome epithelium of *Lumbricus terrestris.* Anat. Rec. *127*, 460 (1957).

Beers, J. R.: A histological and histochemical study of the green gland of *Cancer borealis.* Anat. Rec. *131*, 531 (1958).

Belt, W. D. und Pease, D. C.: Mitochondrial structure in sites of steroid secretion. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *2* (Suppl.) 369—374 (1956).

Benham, W. B.: The nephridium of *Lumbricus* and its blood supply; with remarks on the nephridia in other Chaetopoda. Quart. J. microsc. Sci. *32*, 293—334 (1891).

Bennet, H. S., Luft, J. H. und Hampton, J. C.: Morphological classifications of vertebrate blood capillaries. Am. J. Physiol. *196*, 381—390 (1959).

Berkaloff, A.: Variations de l'ultrastructure des tubes de Malpighi et leur fonctionnement chez *Gryllus domesticus* (Orthoptère, Gryllidae). C. R. Ac. Sci Paris. Séance du 19 Janvrier 1959, 466—469 (1959).

— L'ultrastructure des tubes de Malpighi et le probléme de leur fonctionnement chez les insectes. 4. Internat. Kongr. f. Elektronenmikroskopie Berlin 1958, 392—396, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1960).

Bourne, G. H. (Edit.): Structure and function of muscle. Vol. I Structure. New York and London (1960).

Bouillon, J.: Ultrastructure des cellules rénales des mollusques. Annales des Sc. Nat. Zool. 12e série (1960).

Brandenburg, J.: Die Feinstruktur des Seitenauges von *Lepisma saccharina* L. Zool. Beitr. N. F. *5*, 291—300 (1960).

— Elektronenmikroskopische Untersuchung des Terminalapparates von *Chaetonotus sp.* (Gastrotrichen) als erstes Beispiel eines Cyrtocyte bei Askelmithen. Z. Zellforsch. *57*, 136—144 (1962).

— und Kümmel, G.: Die Feinstruktur der Solenocyten. J. Ultrastructure Research *5*, 437—452 (1961).

*Bretschneider, L. H.: Die submikroskopische Struktur der Darmzelle von *Ascaris suilla*. Eine elektronenmikroskopische Analyse. Proc. Kon. Ak. Wetensch. Amsterdam *57*, 524—539, 1954. (zit. n. Fawcett 1958).

*Butschowitz, W. von: Zur Frage der sogenannten „Bakteroide" bei *Lumbricus terrestris*. Biol. Zbl. *51*, 337—352, 1931. (zit. n. Petzold 1959).

Clark, S. J.: Cellular differentiation in the kidneys of newborn mice studied with the electron microscope. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *3*, 349—362 (1957).

Cordier, R.: Études histophysiologiques sur la néphridie du Lombric. Arch. Biol. *45*, 431—471 (1934).

Cuénot, L.: Études histophysiologiques sur les Oligochètes. Arch. Biol. *15*, 79 (1898).

Dalton, A. J.: A chrome-osmium-fixative for electron microscopy. Anat. Rec. *121*, 281 (1955).

— Kahler, H. und Lloyd, B. J.: The structure of the free surface of a series of epithelial cell types in the mouse as revealed by the electron microscope. Anat. Rec. *111*, 67—77 (1951).

Ekholm, R. und Edlund, Y.: Ultrastructure of the human exocrine pancreas. J. Ultrastructure Research *2*, 453—481 (1959).

— und Sjöstrand, F. S.: The ultrastructural organisation of the mouse thyroid gland. J. Ultrastructure Research *1*, 178—199 (1957).

Engström, H. und Versäll, J.: The ultrastructural organisation of the organ of Corti and the vestibular sensory epithelia Exp. Cell. Res. *5* (Suppl.) 460—492 (1958).

Essner, E., Novikoff, A. B. und Masek, B.: Adenosintriphosphatase and 5-nucleotidase activities in the plasma membrane of liver cells as revealed by electron microscopy. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *4*, 711 (1958).

Fawcett, Don W.: The submicroscopic structure of the kidney in *Rana pipiens*. Anat. Rec. *120*, 733—734 (1954).

· Structural specialisations of the cell surface. Frontiers of Cytology S. 19—41, Yale Univ. Press (1958).

— und Porter, K.R.: A study of the fine structure of ciliated epithelia. J. Morphol. *94*, 221—281 (1954).

Frey-Wyssling, A.: Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. Protoplasmatologia — Handbuch der Protoplasmaforschung — Bd. II, A 2. Wien (1955).

Fuchs, K.: Die Topographie des Blutgefäßsystems der Chaetopoden. Jena Z. Naturw. *42*, 375 (1907).

Gegenbaur, C.: Über die sogenannten Respirationsorgane des Regenwurmes. Z. wiss. Zool. *4*, 221 (1853).

Gérard, P. und Cordier, R.: Recherches d'histophysiologie comparée sur le pro- et mésonéphros larvaires des anoures. Z. Zellforsch. *21*, 1—23 (1934).

Goehlich, G.: Über die Genital- und Segmentalorgane von *Lumbricus terrestris* L. Schneiders Zool. Beitr. *2*, 133—167 (1890).

Goodrich, E.S.: On the nephridiostome of *Lumbricus*. Quart. J. Microsc. Sci. *75*. 165 (1933).

— The study of nephridia and genital ducts since 1895. Quart. J. Microsc. Sci. *86*, 115—392 (1945).

Granger, B. und Baker, R.F.: Electron microscope investigation of the striated border of intestinal epithelium. Anat. Rec. *107*, 423—441 (1950).

Green, D.: Structure and function in the mitochondrial electron-transport-system. Radiation Research *2* (Suppl.) 504—527 (1960).

Hama, K.: The fine structure of some blood vessels of the earthworm *Eisenia foetida*. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *7*, 717—724 (1960).

Hansen, K.: Elektronenmikroskopische Untersuchung der Hirudineen-Augen. Zool. Beitr. N.F. *7*, 83—128 (1962).

Hanson, J.: The fine structure of the smooth muscle fibres in the body wall of the earthworm. J. Biophysic. and Biochem Cytol. *3*, 111—122 (1957).

— und Lowy, J.: Structure and function of the contractile aparatus in the muscles of invertebrate animals. in: Bourne, G.H. (Edit.): Structure and function of muscle, I, Structure 265—335, New York and London (1960).

Hargitay, B. und Kuhn, W.: Das Multiplikationsprinzip als Grundlage der Harnkonzentrierung in der Niere. Z. Elektrochem. *55*, 539 (1951).

*Heidenhain, M.: Über die Struktur der Darmepithelzellen. Arch. mikr. Anat. *54*, 1899 (zit. n. Maziarski 1903).

Hirsch, G. Chr.: Dynamik der tierischen Zelle. In: Handbuch der Biologie, Herausgeber: Bertalanffy, L. von und Gessner, F., Bd. I, H. 9/10, 11/12, 219—286 (1960).

Hodge, A. J.: Fine structure of lamellar systems as illustrated by chloroplasts. Rev. Modern Physics *31*, 331—341 (1959).

Holmberg, Å.: Ultrastructural changes in the ciliary epithelium following inhibition of secretion of aequous humour in rabbit eye. Med. Diss. Stockholm (1957).

Holter, H.: Pinocytosis. Intern. Rev. Cytol. *8*, 481—504 (1959).

Kaplan, S. E. und Novikoff, A. B: The lokalisation of Adenosine triphosphatase activity in rat kidney: Electron microscopic examination of reaction product in formol-calcium-fixed frozen section. J. Histochem. Cytochem. *7*, 295—296 (1959).

Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Stuttgart (1961).

Kawaguti, S. und Ikemoto, N.: Electron microscopy on the smooth muscle from the body wall of the earthworms *Pheretina communissima* and *Eisenia foetida*. Biol. J. Okayama Univ. *3*, 223—238 (1957).

Knop, J.: Bakterien und Bakterioden bei Oligochäten. Z. Morphol. Ökol. *6*, 588—624 (1926).

Komnick, H.: Untersuchung an Salzdrüsen als Beitrag zur funktionellen Morphologie des Stofftransportes. 10. Tagung dt. Ges. Elektronenmikrosk. Kiel (1961).

Kückenthal, W.: Über die lymphoiden Zellen der Anneliden. Jena Z. Naturw. *11*, 319 (1895).

Kühn, K., Graßmann, W. und Hofmann, U.: Die elektronenmikroskopische „Anfärbung" des Kollagens und die Ausbildung einer hochunterteilten Querstreifung. Z. Naturforsch. *13 b*, 154—160 (1958).

Kuhn, W. und Ryffel, K.: Herstellung hochkonzentrierter Lösungen aus verdünnten durch bloße Membranwirkung. Ein Modellversuch zur Funktion der Niere. Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chem. *267*, 145 (1942).

Kuhn, H. J., Moser, P. und Kuhn, W.: Haarnadelgegenstrom als Grundlage zur Erzeugung hoher Gasdrücke in der Schwimmblase von Tiefseefischen. Pflügers Archiv *275*, 231—237 (1962).

Kuhn, W. und Kuhn, H. J.: Multiplikation von Aussalz- und anderen Einzeleffekten für die Bereitung hoher Gasdrucke in der Schwimmblase. Z. Elektrochem. *65*, 426—439 (1961).

Kümmel, G.: Das Terminalorgan der Protonephridien, Feinstruktur und Deutung der Funktion. Z. Naturforsch. *13 b*, 677—679 (1958).

— Die Feinstruktur der Wimperflamme in den Protonephridien. Protoplasma *51*, 371—376 (1959).

— Die Feinstruktur des Pigmentbecherocells beim Miracidium von *Fasciola hepatica* L. Zool. Beitr. N. F. *5*, 345—354 (1960).

— Zwei neue Formen von Cyrtocyten. Vergleich der bisher bekannten Cyrtocyten und Erörterung des Begriffes „Zelltyp". Z. Zellforsch. *57*, 172—201 (1962).

— und Brandenburg, J.: Die Reusengeißelzellen (Cyrtocyten). Z. Naturforsch. *16 b*, 692—697 (1961).

Kurosumi, K., Iijima, T. und Kitamura, T.: Electron microscopy of the human eccrine sweat gland with special reference to the folding plasma membrane. 4. Internat. Congr. f. Elektronenmikroskopie Berlin 1958, Bd. II, S. 361, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1960).

Ladman, A. J. und Young, W. C.: An electron microscopic study of the ductuli efferentes and rete testis of the guinea pig. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *4*, 219—226 (1958).

Lawn, A. M.: Observations on the structure of the gastric parietal cell of the rat. J. Biophysic. and Biochem Cytol. *7*, 161—165 (1960).

Leuthardt, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berlin (1959).

Longley, J. B. und Fischer, E. R.: Alkaline phosphatase and periodic acid Schiff reaction in the proximal tubule of vertebrate kidney. Anat. Rec. *120*, 1—21 (1954).

Lorenzo, A. J. de: Electron microscopic observations on the taste buds of the rabbit. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *4*, 143—148 (1958).

Luft, J. H.: Permanganat — A new fixative for electron microscopy. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *2*, 799—801 (1956).

Martin, A. W.: Recent advances in knowledge of invertebrate renal function. Sympos. Recent advances in invertebrate physiology, Edit. Scheer, B. T., 247—276, Univ. Oregon (1957).

— Comparative Physiology (Excretion). Annu. Rev. Physiol. *20*, 225—242 (1958).

Maxwell, D. S. und Pease, D. C.: The electron microscopy of the choroid plexus. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *2*, 467—474 (1956).

Maziarski, St.: Recherches cytologiques sur les organes segmentaires des vers de terre. Poln. Arch. f. biol. med. Wiss. *2*, 1—80 (1903).

Meyer, G. F.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Malpighigefäßen verschiedener Insekten. Z. Zellforsch. *47*, 18—28 (1957/58).

Miller, F. und Sitte, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Mäusenieren nach intraperitonealen Eiweißgaben Verh. Dtsch. Ges. Path. *39*, 183 (1956).

Mölbert, E., Duspiva, F. und v. Deimling, O.: The demonstration of alkaline phosphatase in the electron microscope. J. Biophysic. Biochem. Cytol. *7*, 387—390 (1960) a).

— — — Die histochemische Lokalisation der Phosphatase in den Tubuluszellen der Mäuseniere im elektronenmikroskopischen Bild. Z. Zellforsch. (Abt. Histochem.) *2*, 5—22 (1960) b).

*Newman, B., Borysko, E. und Swerdlow, M.: Ultramicrotomy by a new method. J. Res. Natl. Bur. Standards *43*, 183 (1949) (zit. n. Reimer 1959).

Nilsson, O.: Observations on a type of cilia in the rat oviduct. J. Ultrastructure Res. *1*, 170—177 (1957).

— Ultrastructure of mouse uterine surface epithelium under different estrogenic influences I. J. Ultrastructure Res. *1*, 375—396 (1958) a).

— Electron microscopy of the fallopian tube epithelium of rabbits in oestrus. Exp. Cell Res. *14*, 341—354 (1958) b).

*Okada, Tagaki und Sugino: Microchemical studies on the so-called photogenic granules of *Watasenia scintillans*. Proc. Imp. Ac. Tokyo *10*, 431—434 (1933). (zit. n. Petzold 1959).

Palade, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. J. exp. Med. *95* 285 (1952).

Pandazis, G.: Zur Frage der Bakteriensymbiose bei Obligochäten. Zbl. Bakteriol. 1. Abt. *120*, 440—452 (1931).

Pease, D. C.: Fine structure of the kidney seen by electron microscopy J. Histochem. *3*, 295—301 (1955).

— Electron microscopy of the tubular cells of the kidney cortex. Anat. Rec. *121*, 732—743 (1956).

— Infolded plasma membranes found in epithelia noted for their water transport. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *2* (Suppl.), 203—208 (1956).

— The basement membrane: Substratum of histological order and complexity. 4. Internat. Congr. f. Elektronenmikroskopie Berlin 1958, 139—155, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1960).

Perschmann, Ch.: Über die Bedeutung der Nierenpfortader insbesondere für die Ausscheidung von Harnstoff und Harnsäure bei *Testudo hermanni* Gml. und *Lacerta viridis* Laur. Zool. Beitr. N. F. *2*, 447—480 (1956).

Peters, H.: Über den Einfluß des Salzgehaltes im Außenmedium auf den Bau und die Funktion der Exkretionsorgane decapoder Crustaceen (Nach Untersuchungen an *Potamobius fluviatilis* und *Homarus vulgaris.)*. Z. Morphol. Ökol. Tiere *30*, 355—381 (1936).

Petzold, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der „Bakteroiden" des Regenwurmes *Lumbricus terrestris* L. Z. Zellforsch. *49*, 611 (1959).

Piekarski, G. und Giesbrecht, P.: Zytologische Untersuchungen an *Bacillus megaterium* mit Hilfe ultradünner Schnitte. Naturw. Berlin *43*, 89—90 (1956).

*Policard, A., Collet, A. und Gietaire-Ralyte, L.: Étude au microscope électronique de la »bordure en brosse« du tube urinaire des mammifères. C. R. Acad. Sci. Paris *239*, 936—938 (zit. n. Fawcett 1958).

Pak Poy, R.F.K. und Bentley, P.J.: Fine structure of the epithelial cells of the toad urinary bladder. Exp. Cell Res. *20*, 235—237 (1960).

Prosser, C.L.: Comparative animal physiology. Philadelphia and London (1950).

— und Brown, F.A.: Comparative animal physiology. Philadelphia and London (1961).

*— und Zimmerman, G.L.: Physiol. Zool. *16*, 77—83 (1943) (zit. n. Prosser 1950).

Ramsay, J.A.: The osmotic relations of the earthworm. J. Exp. Biol. *26*, 46—56 (1949/50).

— The site of formation of hypotonic urine in the nephridium of *Lumbricus*. J. Exp. Biol. 26, 65—75 (1949/50).

Rasmont, R., Vandermeersche, G. und Castiaux, P.: Ultrastructure of the coxal glands of the scorpion. Nature (London) *182*, 328—329 (1958).

Rauber-Kopsch, F.: Lehrbuch und Atlas der Anatomie des Menschen. Bd. II, Stuttgart (1955).

Reimer, L.: Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden. Berlin (1959).

Rein, H. und Schneider, M.: Einführung in die Physiologie des Menschen. Berlin (1960).

Rhodin, J.: Correlation of ultrastructural organisation and function in normal and experimental changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Diss. Med. Stockholm (1954).

— Further studies on the nephron ultrastructure in mouse: Terminal part of proximal convolution. Proc. Stockholm Conf. Electr. micr. 1956, 180—182 (1957).

— Anatomy of kidney tubules. Intern. Rev. Cytol. *7*, 485—534 (1958).

Rollhäuser, H. und Vogell: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die aktive Stoffausscheidung in der Niere. Z. Zellforsch. *47*, 53—67 (1957).

Romeis, B.: Mikroskopische Technik. München (1948).

Roots, B.I.: Nature of chloragogen granules. Nature (London) *179*, 679—680 (1957).

Rosen, F.: Der Wimpertrichter der Lumbriciden. (Ein Beitrag zur Kenntnis der lymphoiden Organe). Z. wiss. Zool. *98*, 135—178 (1911).

Ruska, H., Moore, D. H. und Weinstock, J.: The base of the proximal convoluted tubule cells of rat kidney. J. Biophysic. and Biochem Cytol. *3*, 249—254 (1957).

Ryter, A., Kellenberger, E., Birch-Andersen, A. und Maløe: Étude au microscope électronique des plasmas contenant de l'acide desoxyribonucléique. Z. Naturforsch. *13 b*, 597—605 (1958).

Schmidt-Nielsen, B.: Urea excretion in mammals. Physiol. Rev. *38*, 139—168 (1958).

*— Fed. Proc. *15*, 163 (1956) (zit. n. Landois-Rosemann: Physiologie des Menschen. München/Berlin 1960).

Schneider, G.: Über phagocytäre Organe und Chloragogenzellen der Oligochaeten. Z. wiss. Zool. *61*, 363—392 (1896).

— Über Phagocytose und Exkretion bei den Anneliden. Z. wiss. Zool. *66*, 497—520 (1899).

Schneider, K. C.: Lehrbuch der vergleichenden Histologie der Tiere. Jena (1902).

Schulz, H.: Die submikroskopische Morphologie des Kiemenepithels. 4. Internat. Congr. f. Elektronenmikroskopie Berlin 1958, Bd. II 421—426, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1960).

Semal van Gansen, P.: Structure des glandes calciques d'Eisenia foetida. Bull. Biol. Franc. Belg. *93*, 38—62 (1959).

Semal van Gansen und Vandermeersche, G.: L'ultrastructure des cellules chloragogènes. Bull. Micr. appl. *8*, 7—13 (1958).

Sjöstrand, F. S.: Über die Eigenfluoreszenz tierischer Gewebe mit besonderer Berücksichtigung der Säugerniere. Acta Anatomica *1* (Suppl.) 7—163 (1945/46).

* — A new ultramicrotom for ultrathin sextioning for high resolution electron microscopy. Exper. (Basel) *9*, 114 (1953) (zit. n. Reimer 1959).

* — Instruction for use. Sjöstrand Ultramicrotome 1955. (zit n. Kümmel, G.: Die Gleitbewegung der Gregarinen. Arch. Protistenk. *102*, 501—522 (1958).

— The ultrastructure of the retinal receptors of the vertebrate eye. Ergebn. Biol. *21*, 128—160 (1959).

— und Rhodin, J.: The ultrastructure of the proximal convoluted tubules of the mouse kidney as revealed by high resolution electron microscopy. Exp. Cell Res. *4*, 426—456 (1953).

Smith, H. W.: The kidney. New York (1951).

— Principles of renal physiology. New York (1956).

Smith, R. H.: The biosynthesis of some connective tissue components. Progress in Biophysics *8*, 217—240 (1957).

Smith, D. S. und Littau, V. C.: Cellular specialisation in the excretory epithelia of an Insect. *Macrosteles fascifrons* Stål (Homopt.). J. Biophysic. and Biochem. Cytol. *8*, 103—133 (1960).

Strugger, S.: Die Uranylkontrastierung für die elektronenmikroskopische Untersuchung der Pflanzenzellen. Naturwiss. Berlin *43*, 357 (1956).

Strunk, C.: Beiträge zur Excretions-Physiologie der Polychäten *Arenicola marina* und *Stylariodes plumosus*. Zool. Jb. Physiol. *47*, 259—290 (1930).

Suzuki, Y.: An electron microscopy of renal differentiation. I. Proximal tubule cells. J. Electronmicr. *6*, 52—65 (1958).

Svedberg, Th. und Erikson, I. B.: The molecular weight of erythrocruorin. J. Amer. chem. Soc. *55*, 2834 (1933).

Tsubo, I. und Brandt, P. W.: An electron microscopic study of the Malpighian tubules of the grashopper, Dissosteira carolina. J. Ultrastructure research *6*, 28—35 (1962).

Urich, K.: Über die Funktionen des Regenwurm-Chloragogs, insbesondere über Fettresorption und Fettspeicherung bei *Lumbricus terrestris* L. Naturw. Berlin. *44*, 1—2 (1957).

— Über die Funktionen des Regenwurm-Chloragogs, insbesondere über Fettresorption und Fettspeicherung bei *Lumbricus terrestris* L. Z. vgl. Physiol. *41*, 342—363 (1958).

— Über den Stoffbestand der Chloragosomen von *Lumbricus terrestris* L. Zool. Beitr. N. F. *5*, 281—289 (1960).

Vandebroek, G.: Organogénèse du système néphridien chez les Oligochètes et plus spécialement chez *Eisenia foetida* Sav. Recu. Inst. Zool. Torley-Rousseau *5*, 5—72 (1934).

Vial, J.D. und Orrego, H.: Electron microscope observations on the fine structure of parietal cells. J. Biophysic. Biochem. Cytol. *7*, 367-372 (1960).

Wachstein, M.: Histochemical staining reactions of the normally functioning and abnormal kidney. J. Histochem. Cytochem. *3*, 246—270 (1955).

Walker, B.E.: A comparative study of transitional epithelium with the electron microscope. Anat. Rec. *130*, 385 (1958).

Waterman, T.H.: The physiology of Crustacea. New York and London (1960).

Wessing, A.: Elektronenmikroskopische Studien zur Funktion der Malpighischen Gefäße von *Drosophila melanogaster*. Protoplasma *55*, 264—293 (1962).

Wetzel, B.K.: Contributions to the cytology of *Dugesia tigrina* (Turbellaria) Protonephridia. 5. Intern. Congr. Electr. Micr. Philadelphia 1962.

Wigglesworth, V.B. und Salpeter, Miriam M.: Histology of the Malpighian tubules in *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera). J. Ins. Physiol. *8*, 299—307 (1962).

Wigglesworth, V.B.: Physiologie der Insekten. Basel u. Stuttgart (1955).

Wilber, C.G.: Glucose content of the body fluid in marine annelids. J. biol. Chem. *173*, 141—143 (1948).

Wilbrandt, W.: Permeabilität und Stofftransporte. Fortschr. Zool. *12*, 28—127 (1960).

Willem, V. und Minne, A.: Recherches sur l'éxcrétion chez quelques Annelides. Mem. Ac. R. Belg. Cl. Sci. *58*, 1—73 (1899/1900).

Wohlfahrt-Bottermann, K.E.: Die Eignung und Anwendung von Phosphorwolframsäure und Thalliumnitrat als Kontrastmittel zur Darstellung cytoplasmatischer Strukturen. Proc. Stockholm Conf. Electr. micr. 1956, 124—125, Stockholm-Uppsala (1957).

Yamada, E.: The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse. J. Biophysic. Biochem. Cytol. *1*, 445—458 (1955).

Zelander, T.: Ultrastructure of mouse adrenal cortex. J. Ultrastructure Res *2*, 3—111 (Suppl.) (1959).

Lebenslauf

Am 23. 9. 1934 wurde ich, Kai Graszynski, als Sohn des Bankangestellten Kurt Graszynski und seiner Ehefrau Rita, geborenen Klundt, in Berlin-Zehlendorf geboren. Ich besuchte Schulen in Berlin, Kieve, Kreis Waren in Mecklenburg, Hamburg und wieder Berlin. 1955 bestand ich die Reifeprüfung im neusprachlichen Zug der Arndt-Schule in Berlin-Dahlem. Vom Sommersemester 1955 an studierte ich 11 Semester Zoologie, Chemie, Physik und Botanik an der Freien Universität Berlin. Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren Drawert, Eckardt, Günther, Herter, Honerjäger, Jahr, Kemper, Lassen, Lautsch, Lüers, May, Richter, Ruska, Stein, Ueberreiter, Ulrich, Urich, Werdermann und Herr Dr. Engel. Von Anfang 1959 bis Mitte 1961 fertigte ich unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. W. Ulrich eine Dissertationsarbeit an über das Thema „Die Feinstruktur des Nephridialkanals von *Lumbricus terrestris* L. — Eine elektronenmikroskopische Untersuchung". Im Oktober 1961 bestand ich die Doktorprüfung. Seit dem 1. November 1961 bin ich als Wissenschaftlicher Assistent (mit der Wahrnehmung beauftragt) am II. Zoologischen Institut der Freien Universität Berlin, Berlin-Steglitz, Grunewaldstraße 34, beschäftigt.